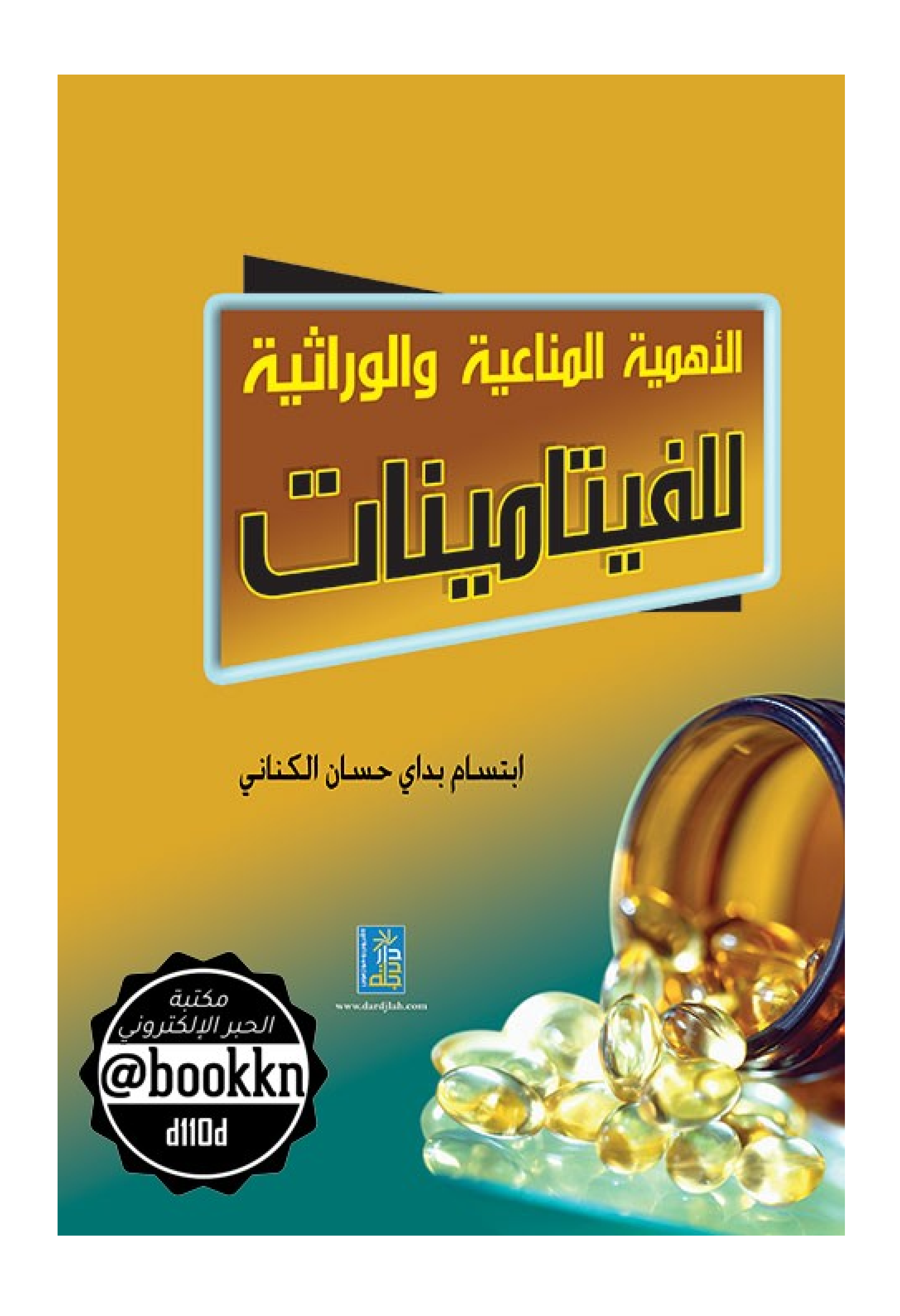


الأهمية المناعية والوراثية للفيتامينات

ابتسام بداي حسان الكناني

دار دجلة
www.dardjlah.com


الأهمية المناعية والوراثية
للفيتامينات
ابتسام بداي حسان الكناني
www.dardjlah.com
مكتبة
الحبر الإلكتروني
@bookkn

الأهمية المناعية والوراثية للفيتامينات

تأليف

ابتسام بداي حسان الكناني

المراجعة العلمية

أ. د علي حسين ادحية

أ. د نصر فرحان عبد الله

دار دجلة

2006

قائمة المختصرات

المصطلحات	المختصرات
Adenosine deaminase	ADA
Low-density lipoprotein	LDL
Antigen presenting cell	APC
Cluster of differentiation	CD
Deoxyribonucleic acid	DNA
Delayed-type hypersensitivity	DTH
Food and drug administration	FDA
Hank's balanced salt solution	HBSS
Immunoglobulin G	IgG
Immunoglobulin M	IgM
Interleukin	IL
Major histocompatibility complex	MHC
Mitotic index	MI
Natural killer cell	NK
Phosphate buffer saline	PBS
Polymorphonuclear cells	PMNS

TCR	T-cell receptor
TNF	Tumor necrosis factor
CA	Chromosomal aberration
CP	Cyclophosphamide
DMH	dimethyl hydrazine 1.2
EMS	E'thy1 methane sulfonate
H2O2	Hydrogen peroxide
SCID	Sever combind immunodeficiency disease
C3b	Complement component C3b
DMBA	Dimethy lbenzaanthracin
4NQNO	Nitro quinoline-N-oxide-4
SCE	Sister chromatid exchange

قائمة المعاني

المعنى	المصطلح
مضاد للأورام	Anti tumors
المستضد	Antigen
الضد	Antibody
أمراض المناعة الذاتية	Autoimmune diseases
نقي العظم	Bone marrow
الجذب الكيميائي	Chemotaxis
المتمم	Complement
حركيات خلوية	Cytokines
ديفانات داخلية	Endotoxines
خلايا الحمضة	Eosinophils
الخلايا الظهارية	Epithelial cells
معدلات مناعية	Immunomodulators
إصابة	Infection
داخل غشاء الخلب	Intraperitoneal
في الزجاج	In vitro
في الحي	In vivo
وسائط لمفاوية	Lymphokines

Mitogens	مشطرات(مولدات الانقسام)
Mitotic index	معامل الانقسام الخلوي
Monocytes	أحادية النواة
Neutrophils	خلايا العدلة
Opsonization	طهاية (ابسنة)
Phagocytosis	البلعمة
Polycolonal Antibodies	الأضداد متعددة النسيلة
Thymus	التوثة
Damage	ضرر
Dietary inhibitors	مثبطات غذائية

الإهداء

إلى قبس النور الذي أضاء طريقي وهيأ لي أسباب النجاح

إلى سندي في الحياة وفخري واعتزازي...

إلى الصدق والشجاعة والمحبة... نور عيني...

والدي حفظه الله ومدّ في عمره

إلى البساطة والطيبة

إلى بحر الحنان والحب... نور عيني...

والدتي حفظها الله ومدّ في عمرها

الفصل الأول

1-1: المقدمة

Introduction

" الوقاية خير من العلاج" هذه العبارة دفعت الكثير من الباحثين والعلماء لإيجاد السبل الكفيلة للقضاء على الأمراض المزمنة والخطيرة كالسرطان وأمراض القلب أو العمل على تأخير ظهورها لاسيما بعد الانفجار المعرفي والتقني الهائل في صناعة الأدوية والمستحضرات الكيميائية والتي سرعان ما أظهرت عدم قدرتها في الوقاية من تلك الأمراض الخطرة حيث أصبحت تأثيراتها الجانبية ضارة للجنس البشري لأنها قد تستهدف مادته الوراثية مسببة بذلك حدوث طفرة يمكن أن تتناقلها الأجيال، وهذا مما حدا بالعلماء التوقف لإلقاء نظرة تمعن في تلك المواد الكيمائية التي استخدمت لعلاج بعض الأمراض لاسيما السرطانية منها في المرضى الخاضعين للعلاج الكيمائي، فضلاً عن ذلك يأتي التعرض للملوثات البيئية ليضيف خطراً آخر على المادة الوراثية للإنسان ولهذا حثت الدراسات على تناول الغذاء الحاوي على الفيتامينات والمركبات المضادة للتطفر والتسرطن والأكسدة. وقد أوضحت الكثير من الدراسات الوبائية أهمية الفيتامينات في الغذاء كونها مضادة للأكسدة وبالتالي يمكن أن تعد مضادة للتطفر والتسرطن ومعززة ومنشطة للجهاز المناعي

(Abdulla Gruber, 2000; Schorah, 1999; Filiberti et al. 1997). فقد أثبتت الدراسات أن نسب الإصابات بالسرطان هي أقل في المجتمعات ذات التغذية النباتية الغنية بالفيتامينات مقارنة بالمجتمعات الأقل استخداماً للفيتامينات في غذائها اليومي (Waston et al.,, 2000). في ضوء ما تقدم، اقترحت وأنجزت الدراسة الحالية لكي تسلط الضوء على التأثيرات الوراثية والمناعية لثلاثة فيتامينات وهي (E,C,A) فضلاً عن أهميتها كمضادات للتطفر (Anti-mutagenic). ولغرض الوصول إلى الهدف، فقد اختير الفأر المختبري الأبيض بوصفه نظاماً اختباريا من خلال دراسة مجموعة من المعايير الوراثية والمناعية المتاحة ضمن امكانياتنا في الوقت الحاضر. إن هذا النوع من الدراسات يكتسب أهمية في العالم بصورة عامة وفي العراق بصورة خاصة حيث أنها تتزامن مع التلوث البيئي الذي أحدثته الحروب في السنوات الأربع عشرة الأخيرة على العراق منذ عام 1991 وما خلفته من أضرار بيئية جسيمة تتحمل وزر عاقبتها مادتنا الوراثية التي ستدفع ثمن ذلك غالياً يمكن رؤيته من خلال تزايد نسب الإصابة بالأمراض الخبيثة والمزمنة في المجتمع ولا سيما أمراض السرطان (Ad'hiah et al., 2002b; Ad'hiah et al., 2001 la). لذلك فرضت الحاجة علينا إيجاد السبل الكفيلة بالحد وتقليل أثر تلك الأمراض عن طريق تسليط الضوء على الفيتامينات المتوافرة بكثرة في الفواكة والخضار الشائعة في الغذاء اليومي لدى المجتمع العراقي بكل شرائحه والتي يمكن أن تحقق لمادتنا الوراثية وتعزز دفاعات أجسامنا ضد الأمراض الخطيرة.

1-2: هدف الدراسة

Aim of study

هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم فعل الفيتامينات (E,C,A) في الجهازين الوراثي والمناعي لذكور الفئران البيضاء وما هو الدور الذي يمكن أن تؤديه في حماية هذين الجهازين من خطر التعرض لأحد العقاقير (Etoposide) الضارة وراثياً والمثبطة للجهاز المناعي ومن خلال الفحوصات الآتية:-

1- العدد الكلي (Total count) والتفريقي (Differential count) لخلايا الدم البيضاء.

2- البلعمة (phagocytesis) لخلايا غشاء الخلب (peritone).

3- معامل انقسام Mitotic index خلايا نقي العظم والتوثة والطحال.

4- الإنحرافات الكروموسومية Chromosoma aberrations لخلايا نقي العظم.

5- النوى الصغيرة (Micronuclei) في خلايا نقي العظم.

6- تشوهات رؤوس النطف (Sperm head abnormalities).

7- قياس فعالية أنزيم ادينوسين دي امينيز (ADA) Adenosine Deaminase في مجانس خلايا التوثة.

المؤلفان

الفصل الثاني

2-1: الفيتامينات

Vitamins

تعد الفيتامينات مركبات عضوية موجودة في الغذاء الطازج ولا يستطيع جسم الإنسان بناءها، وإذا صنعت فإنها بكميات غير كافية. يحتاج الجسم هذه المركبات بكميات قليلة إلا أنها ضرورية جداً في العمليات الأيضية الطبيعية Normal metabolism، حيث تعد مكونات أساسية للأنظمة الأنزيمية Enzyme systems (Everett et al., 1996). عرفت الفيتامينات من خلال بعض الأمراض التي تتصاحب مع نقصها Deficiency في بعض المكونات الغذائية، وفي هذا الصدد يأتي العالم Funk وفي عام 1911 ليعطي الدليل الأول على وجود الفيتامينات في الغذاء الطازج وذلك من خلال أبحاثه على مرض البري بري Beri-beri في الطيور، حيث استطاع هذا العالم استخلاص مادة من الخميرة ونخالة الرز يمكن أن تداوي هذا المرض. سميت تلك المادة في البداية الأمين الحيوي Vita lamine ومنه اشتق المصطلح Vitamin، علماً بأن vita في اللاتينية تعني مادة الحياة (Cole et al., 1988). بعد ذلك توالت الدراسات لتكتشف بأن الفيتامينات تضم أنواعاً تختلف في خصائصها الكيميائية والحياتية، وبصورة عامة فإنها تقسم إلى مجموعتين أساسيتين، فيتامينات ذائبة في الدهون Fat-soluble وتشمل فيتامنيات K,D,E,A وفيتامينات ذائبة في الماء Water-soluble وتشمل فيتامين C ومجموعة فيتامينات معقد B (Hill, 1997). كما أن هذه الفيتامينات تختلف أيضاً بنوع الأمراض المتصاحبة مع نقصها وكما هو موضح في الجدول (2-1).

جدول (2-1): الفيتامينات والأمراض المصاحبة لنقصها

الفيتامينات	الأمراض
A	Keratomalacia, Night blindness, Xerophthalmia
D	Osteomalacia, Rickets
E	Ataxia, Haemolytic anaemia
K1	Coagulation disorder
B1	Beri-beri
B2	Stomatitis, Glossitis
B3	Pellagra

B6	Polyneuropathy
B12	Neurological degeneration, Anaemia
C	Scurvy

(Summerton et al., 2002)

فضلاً عما تقدم فقد كشفت الدراسات النقاب عن الأهمية والدور الذي تؤديه الفيتامينات في جوانب حياتية Biological aspects أخرى من أهمها الوراثية والمناعية، فقد أوضحت هذه الدراسات بأن الفيتامينات ذات فعالية عالية في اختزال الطفرات Mutations الحاصلة في الـ د..ن. ا DNA (Blot, 1997) والمستحثة بالمواد الكيميائية (Kandarkar et al. 1997) والاشعاع (Schorach, 1999) والفايروسات (Filiberti et al., 1997). كما أنها يمكن أن تدعم وتعزز فعالية الجهاز المناعي من خلال تأثيرها في العمليات الدفاعية الجسمية مثل تكاثر الخلايا اللمفاوية التائية T-lymphocytes (Hughes, 2000) وحساسية استجابة الخلايا اللمفاوية (Hughes, 2001).

2-2: فيتامين A

يوجد فيتامين A في الأغذية ذات الأصل الحيواني مثل الحليب والكبد، كما يوجد أيضاً في الخضروات Vegetables بهيئة كاروتين Carotene، وهذا الأخير يعد Provitamin A، والذي يتحول إلى فيتامين A في الأمعاء أو الكبد، ولأهمية فيتامين A في النظر يسمى Ratinol (Cole et al., 1988)). يعد هذا الفيتامين ضرورياً لعمليات حياتية كثيرة مثل النمو الطبيعي Normal growth وتطور الجنين Fetal development والخصوبة Fertility وتكون خلايا الدم Haemopoiesis وأداء الجهاز المناعي لوظائفه، لذلك نجد أن الأطفال الذين يعانون نقصاً في هذا الفيتامين تزداد فرصة إصابتهم بالأخماج التنفسية Respiratory infections والالتهابات المعوية Gastroenteritis (Filiberti et al. , 1997)، إلا أن تلك ليست الأعراض النوعية Specific symptoms وإنما يكمن تأثير النقص في الطبقة الظهارية Epithelium المبطنة للقنوات التنفسية والهضمية والبولية – التناسلية والدمعية، بحيث تصبح هذه الطبقة متقرنة Keratinizing epithelium وهذا يتجلى واضحاً في بداية ظهور Xerophthalmia والذي يتطور إلى العشو الليلي Night blindness (Leo Liber, 1999; Kamei et al., 1993).

التأثيرات الوراثية لفيتامين A

تقترح الدراسات بأن فيتامين A من المركبات المضادة للأكسدة Anti-oxidants والكاسحة للجذور الحرة Free radicals وبالتالي فإنه يمكن أن يقلل من خطر التعرض للمواد المطفرة Mutagenic والمسرطنة Carcinogenic. وانسجاماً مع ذلك فقد لوحظ بأن فيتامين A المأخوذ أو المضاف يقلل من فرصة الإصابة بسرطان الرئة لاسيما في الذكور المدخنين (Heinonen Albanes, 1994) وسرطان الثدي عند الإناث (Terry et al., 2002). وقد جاءت تلك الملاحظات معززة لما لوحظ من قابلية فيتامين A لتثبيط تكون الأورام المستحثة بالمواد الكيميائية في الفئران المختبرية (Rohan et al., 1993) وخصوصاً عند إعطاء الفيتامين مع أحد العناصر النزرة (السلينيوم)، حيث لوحظ تثبيط واضح لفعل المادة الكيميائية المسرطنة Dimethylbenze (a) anthracene في استحثاث الغدد اللبنية في الجرذ (deFolra Ramel, 1988). وفي ضوء ما تقدم اقترح بأن الأشخاص الذين يكون مستوى فيتامين A عالياً في أجسامهم تقل فرصة إصابتهم بالسرطان (Wang Russel, 1999; Lupulescu, 1994).

التأثيرات المناعية لفيتامين A

يؤدي فيتامين A دوراً مهماً في أداء الجهاز المناعي لوظائفه، وأن هذا الدور قد يكون غير مباشر أو مباشر. حيث بينت الدراسات وكما أسلفنا سابقاً بأن قص فيتامين A يتسبب في تحول الطبقة

الظهارية الطبيعية المبطنة للقنوات التنفسية والمعوية والبولية التناسلية إلى طبقة متقرنة (Leo
Lieber, 1999; Kamei et al., 1993) وأن مثل ذلك يؤدي إلى تعطل الدفاعات المناعية
الجسمية في تلك المواقع وهذا ما يعطي فرصة أكبر للممرضات phathogens، من اختراق
تلك الدفاعات وإحداث المرض (Hughes, 1999; Cole et al., 1988). ولتكون فيتامين
A من المركبات المضادة للأكسدة فإنه يعمل على اقتناص الأوكسجين الحر وحماية أغشية الخلايا
اللمفاوية من التلف الذي تحدثه جذور NO2 (Ames et al., 1993). كما يعمل فيتامين A
على تحفيز الجهاز المناعي من خلال تثبيط تكون Nitrosamines وإدامة الاتصالات ما بين
الخلايا (Lee, 1999; van Poppol van Denberg, 1997; Toma et al., 1995).
يعمل فيتامين A أيضاً على دعم الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية and humoral
immune response Cellular حيث لوحظ بأن هذا الفيتامين يعمل على تثبيط فعل الأشعة
فوق البنفسجية Ultra violet المثبطة للجهاز المناعي من خلال زيادة إعداد الخلايا اللمفاوية
المساعدة T-helper lymphocytes (CD4+) والخلايا اللمفاوية السمّية الخلوية T-
cytotoxic lymphocytes (CD 8+) والخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells
وإدامة بعض الحركات الخلوية Cytokines مثل Interlukin-12(Hughes, 2001).

2-3 فيتامين C

يعرف فيتامين C أيضاً بإسم Ascorbic acid والذي يعد من الفيتامينات السهلة الذوبان في الماء والسوائل النسيجية، وأن مصدره الأساس هو الخضروات والفاكهة الطازجة كما أنه يعد عاملاً مختزلاً Reducing agent فعالاً في الأنسجة الحية (Cole et al., 1988). وفي ضوء ذلك فإنه يؤدي دوراً مهماً في العديد من العمليات الحياتية داخل الجسم حيث أنه مطلوب في تفاعلات التحلل المائي الحاصلة في الأنسجة الرابطة Connective tissues وبناء الكولاجين Collagen والأحماض الأمينية Amino Acids، ويساهم أيضاً في التئام الجروح وتأيض الدهون (Smirnoff, 2001; Lee et al., 2000). يُعَدّ الإسقربوط Scurvy وهو المرض الأساس والمعروف تاريخياً بارتباطه بنقص فيتامين C، إلا أن النقص في هذا الفيتامين يمكن أن يتصاحب مع حالات عرضية عديدة منها ضعف الأنسجة الرابطة والألياف ما بين العظام وهشاشة الأسنان وتأثر المادة السمنتية ما بين الخلايا Defective intercellular cement. كذلك تصبح الأوعية الدموية الشعرية رقيقة وعرضه للتمزق والنزف تحت الجلد haemorrhage Capillary والذي قد يتصاحب مع فقر دم ثانوي (Lee at al., 2000). وقد إشارت إحدى الدراسات في إيرلندا إلى أن زيادة استهلاك فيتامين C يساعد في اختزال مخاطر مرض الشريان التاجي (Coronary heart disease) وذلك من خلال عدد من الآليات المضادة للأكسدة وبالاعتماد على قابليته في خفض مستوى الكوليسترول في مصل الدم (Moller Loft, 2002).

2-3-1: التأثيرات الوراثية لفيتامين C

يؤدي فيتامين C دوراً مهماً في العمليات الحياتية الجسمية بصفته عاملاً مختزلاً قوياً في الأنسجة الحية للكثير من المؤكسدات المطفرة والمسرطنة، بحيث أظهر كفاءة عالية في خفض القدرة التطفيرية للعديد من المواد الكيميائية المطفرة في الهامستر الصيني (Kandarkar Sawant, 1996) والفأر (Kandarkar et al.1997) والجرذ (Giacosa et al., 1997) من خلال تقليل نسبة استحثاث الطفرة في المادة الوراثية لخلايا هذه الحيوانات. أما في الإنسان فقد اقترح العديد من الباحثين أهمية فيتامين C في كبت تطور بعض السرطانات الجسمية مثل سرطان الدم (Sram et al., 1983) وسرطان الجلد (deFlora Ramel, 1988) والفم (Sawant kandarkar, 2000) والثدي (Kline et al., 2001; Rohan et al., 1993). وفي العراق فقد وجد الأسدي (1988) بأن فيتامين C يقلل من أثر المادة المطفرة Benzanthracin في استحثاث تشوهات رؤوس النطف في الفئران المختبرية.

2-3-2: التأثيرات المناعية لفيتامين C

لقد اقتُرِح بأن الجرعات العالية من فيتامين C يمكن أن تطور وظيفة الجهاز المناعي إيجابياً، وقد تجلى ذلك واضحاً في زيادة المقاومة لمرض الزكام، وقد فسر ذلك في ضوء حقيقة كون الفيتامين

يزيد من تماسك الأغشية المخاطية المبطنة للقناة التنفسية (Cole et al., 1988)، إلا أن الدراسات اللاحقة فسرت ذلك في ضوء تأثيرات مناعية أخرى، حيث وجد بأن فيتامين C يساعد في تخليق البروستوكلاندينات Prostglandins (Lee et al., 2000) ويزيد من قابلية الخلايا البلعمية على إنتاج أوكسيد النتريك (Bruninga, 2000) ويدعم إنتاج الحركيات الخلوية Cytokines (Hughes, 2000). وعلى هذا الأساس يمكن لفيتامين C أن يلعب دوراً مهماً في مقاومة الإصابات الفايروسية والجرثومية المسببة للأمراض (Loft,2002; Carr Frei, 1999 Moller).

2-4: فيتامين E

هناك ثمانية مركبات ذائبة في الدهون وتمتلك فعالية فيتامين E، إلا أن أكثرها أهمية والذي يوجد جاهزا في الغذاء هو المركب Alpha-tocopherol، ومن المصادر الغذائية الغنية بهذا الفيتامين الزيوت النباتية Vegetable oils والحبوب الكاملة Whole grain cereals والمكسرات Nuts (Cole et al., 1988). يعدّ فيتامين E عاملاً مهماً مضاداً للأكسدة حيث يمنع الجذور الحرة Free radicals من أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة Polyunsaturated fatty acids في غشاء الخلية (Bramley et al., 2000). كما يعمل أيضاً في المحافظة على غشاء الخلية ويؤثر في بناء الـ د. ن. إ DNA وانتقال الإشارات الخلوية Cell signaling (Azzi et al., 2000). إن نقص فيتامين E يمكن أن يتصاحب مع ثلاث حالات مرضية مهمة وهي Myopathy و Neuropathy و liver necrosis (Watson et al., 2000; Lyons et al., 2001) كما أن نقصه يمكن أن يتصاحب مع العقم في الذكور، لذلك أطلق على فيتامين E بمضاد العقم Antisterility vitamin، حيث وجد في ذكور الجرذ وفي غياب فيتامين E من الغذاء حصول تحطم لمنطقة الظهارية المولدة epithelium Germinal في الخصية، أما في الإناث فإن ذلك يتسبب بموت الأجنة (Azzi et al., 2000). كما تشير الدراسات الحديثة إلى أن فيتامين E يحمي من خطر الإصابة بمرض Coronary heart disease وهذا ما لوحظ في عدد من المجاميع السكانية في العالم، حيث اتضح بأن هذا الفيتامين يؤمّن الحماية من الدهون واطئة الكثافة Low-density lipoprotein وهذا ما يقلل من عملية تصلب الشرايين Atherogenesis (Scarfiotti et al., 1997; Ames et al., 1993).

2-4-1: التأثيرات الوراثية لفيتامين E

يصنف فيتامين E بأنه أحد المركبات المضادة للأكسدة وكاسح للجذور الحرة وما ما يمنحه القابلية على حماية الخلايا والأنسجة الجسمية المتعرضة لفعل تلك المواد (Cole et al,. 1988). كما أنه يثبط فعل المواد الكيميائية المسرطنة مثل المادة (DMH) 1.2 Dimethy I hydrazine والتي تستحث سرطان القولون والمستقيم والبروستات في الجرذ (Azzi et al., 2000; Giacosa et al., 1997). وإنسجاماً مع ذلك فقد أوضحت الدراسات السكانية أهمية فيتامين E في تقليل خطر الإصابة بسرطان الثدي (Klin et al., 2001) ويؤخر تطور النمو الورمي في سرطان المريء والمثانة (Michaud et al,,2000; Heinonen Albanes, 1994).

وعند استحثاث تكون التبادل الكروماتيدي الشقيقي (SCE) Exchange Sister Chromatid في خلايا نقي العظم للهامستر الصيني، وجد بأن فيتامين E يقلل من نسبة حدوث هذه التبادلات (O'leary et al., 2001) وكذلك قلل وبنسبة 40% من الطفرة التلقائية Spontaneous mutation في الجرذ (mure Rossman, 2001).

2-4-2: التأثيرات المناعية لفيتامين E

أوضح Sue (1995) بأن فيتامين E يزيد من قابلية الجهاز المناعي على مقاومة الإصابات الفايروسية والبكتيرية وأمراض الحساسية عندما يؤخذ بكميات كافية مع الغذاء. حيث أظهرت الدراسات بأن هذا الفيتامين يحفز على هجرة البلاعم الكبيرة Macrophages (Lee, 1999; Bruninga, 2000) وكذلك هجرة الخلايا اللمفاوية السمية الخلوية إلى مواقع الأورام في الجسم (Sawant Kandarkar, 2000). كما لوحظ أيضاً بأنه يزيد من قابلية الخلايا اللمفاوية البائية B-lymphocytes على إنتاج الأضداد Antibodies في حالات التهاب الكبد الفايروسي Hepatitis (Bramley et al., 2000). وأن نقص الفيتامين يترافق مع انخفاض في تكاثر الخلايا اللمفاوية التائية وانخفاض في إنتاج الأضداد من الخلايا البائية وقلة في إنتاج الحركيات الخلوية Cytokines (Hughes, 2000).

2-5: العقار أيتوبوسيد

Etoposide

يستخدم عقار ايتوبوسيد في علاج الكثير من الأمراض السرطانية في الإنسان، وأن فعله يكمن في التأثير في أحد أنزيمات الخلية (Topisomerase antagonist) (Dewick, 1999).
تستخلص مادة العقار من جذور نبات podophyllum hexandrum والتي صنعت في عام 1966. يبلغ الوزن الجزيئي للعقار 388.56 كيلودالتن ويمتلك الصيغة الجزيئية $C_{29}H_{32}O_{13}$.

يوصف العقار بكونه مطفرا ومثبطاً للجهاز المناعي (Martinsson, 2001; Garcia, et al., 1998)، ولهذا استخدم عقار ايتوبوسيد في الدراسة الحالية كسيطرة موجبة في الفحوصات الوراثية (مطفرا) والمناعية (مثبطا).

2-6: المعايير الوراثية والمناعية في الدراسة الحالية

لقد اعتمدت بعض الفحوصات الوراثية والمناعية لتقييم دور فيتامينات E,C,A في حماية الجهازين الوراثي والمناعي لذكور الفئران البيضاء من الفعل المؤثر للعقار ايتوبوسيد.

2-6-1: العد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيضاء

Total Differential counts of leukocytes

تعدّ خلايا الدم البيضاء وما تنتجه من وسائط Mediators من العناصر الفعالة في وظيفة الجهاز المناعي، حيث تشترك تلك الخلايا في الإستجابة المناعية النوعية Specific immunity والاستجابة المناعية غير النوعية Non-specific immunity (Hosein, 1999). تقع هذه الخلايا في خمسة أنواع اساسية وهي العدلة Neutrophils، واللمفاوية Lymphocytes، ووحيدة النوى Monocytes، والحمضة Eosinophils، والقعدة Basophils، ولكل نوع من هذه الخلايا وظيفته الخاصة في الاستجابة المناعية (Kramer, 2003). إن الصورة العددية لهذه الخلايا مجتمعة (العد الكلي) أو متفرقة (العد التفريقي) يمكن أن يتأثر بالتحديات الجرثومية للجهاز المناعي مثل الفايروسات والبكتريا والطفيليات (Ad'hiah et al., 2002a) أو بتحديات التلوث البيئي مثل أشعة كاما (Ah'hiah et al., 2001 b). والمواد الكيميائية (Ad'hiah et al., 2004). وبالتالي فإن دراسة إعداد هذه الخلايا يمكن أن يعطي فكرة واضحة عن تقييم دور الفيتامينات في الدراسة الحالية، لاسيما إذا أخذنا بنظر الاعتبار بأن مصدر جميع هذه الخلايا هو نقي العظم Bone marrow (Hughes, 2000).

2-6-2: معامل الإنقسام

MI) Mitotic Index)

إن معظم الدراسات التي تقوّم فعالية الجهاز المناعي ومدى تأثره بالعوامل المختلفة تعتمد على قياس تكاثر الخلايا اللمفاوية في مجرى الدم أو الأعضاء اللمفاوية الثانوية، أو أن التقييم يشمل خلايا نقي العظم، كونه مصدراً لكل خلايا الدم (Hughes, 2001). لذلك اعتمدت طريقة حساب مُعامِل الإنقسام كدليل على المناعة الخلوية، إذ تحسب النسبة المئوية للخلايا المنقسمة إلى العدد الكلي للخلايا في عينة تضم 1000 خلية (Shubber Al-Allak,1986). ومن خلال هذا المعُامل يمكن التعرف على الخلايا الإنقسامية في نقي العظم ومدى تأثرها بالعوامل الكيميائية والفيزيائية التي يتعرض لها الحيوان. حيث أثبتت الدراسات بأن هذا المعامل يمكن أن يتأثر سلبياً بالمواد المطفرة والمسرطنة ذات الطبيعة الكيميائية أو الفيزيائية (Ad'hiah et al., 2004; Ad'hiah et al., 2001; 2000, حسن(، وقد ترتفع قيمته في الإصابات البكتيرية (عباس،2001 ; Ad'hiah et al., 2002a) أو عند استخدام بعض المستخلصات النباتية (

العبيدي، 2002) أو بعض المعالجات الهرمونية (الا سدي، 2002). كما اقترح (Watson وجماعته 2000) بأن الغذاء الحاوي على الفيتامينات A,B,C,E يؤثر إيجابياً في صحة الإنسان من خلال التأثير في معدل الإنقسامات الخيطية للخلايا.

2-6-3: البلعمة

phagocytosis

تمثل البلعمة الخط الدفاعي الخلوي في المناعة اللانوعية، حيث يتم ابتلاع وهضم وقتل الجراثيم والمواد الغريبة بمسالك كيميائية عديدة داخل مجموعة من خلايا الدم البيضاء والتي تسمى الخلايا البلعمية phagocytes، تقع هذه الخلايا في نوعين أساسين، وهي خلايا متعددة أشكال النوى Polymorphonuclear cells والتي تضم بصورة أساسية الخلايا العدلة Nutrophils، أما النوع الثاني فهي خلايا وحيدة النوى Monocytes التي تسمى أيضاً خلايا البلعم الكبير Macrophage عندما تتواجد في الأنسجة (Asmis Jelk,2000). تبدأ البلعمة بهجرة الخلايا إلى موقع الإصابة بالإنجذاب الكيميائي Chemotaxis حيث تساعد بعض العوامل الخليطة في ذلك مثل C3a و C5a و Interlukin(Hughes, 1999-8). وعند وصول الخلايا البلعمية إلى مواقع الجراثيم فإنها تقوم بالتهامها بعد أن تحقق اتصال معها عن طريق عوامل الطهاية Opsonins مثل C3b و 1gG (Hughes,2001).

تؤدي الفيتامينات دوراً مهماً في دعم عملية البلعمة، حيث وجد بأن فيتامين C يزيد من الفعالية الإلتهامية للخلايا البلعمية اتجاه فايروس الزكام Influenza virus (Cole et al., 1988). كما لوحظ أيضاً بأن فيتامين E يحفز هجرة خلايا البلعم الكبير إلى مواقع الأورام (Sawant Kandarkar,2000)، في حين لوحظ بأن فيتامين E المضاف إلى عليقة الحيوانات المختبرية يزيد من عدد خلايا وحيدة النوى في مجرى الدم (Moller Loft,2002).

2-6-4: الأنزيم ادينوسين دي امينيز

ADA) Adenosine Deaminase)

يوجد أنزيم ADA في جميع أنسجة اللبائن، حيث ترتفع فعاليته في الأعضاء اللمفاوية الأولية ولاسيما التوثة Thymus والأعضاء اللمفاوية الثانوية ولا سيما الطحال Spleen، كما تزداد فعاليته أيضاً في الخلايا اللمفاوية التائية (Moriwaki et al., 1999). تكمن الوظيفة الأساسية لهذا الأنزيم في تطور الجهاز المناعي وبالتحديد الخلايا اللمفاوية التائية، كما أنه يترافق مع تمايز خلايا وحيدة النوى والخلايا الظهارية (Yound et al., 2001; Banerjee et al., 2002). يعمل أنزيم ADA على تحول الأدينوسين Adenosine والأدينوسين منقوص الأوكسجين Deoxyinosine وأمونيا في أيض قواعد البيورين Purins لذلك فهو يقوم بحماية الخلايا اللمفاوية من الفعل السمي للتراكيز العالية للادينوسين والادينوسين منقوص الأوكسجين (Xu Kellems., 2000; Blackburn et al.,2003)، لذلك فإن زيادة فعالية أنزيم ADA يمكن

أن يدعم وظيفة الجهاز المناعي، بينما لوحظ بأن نقصه ولاسيما في حالة النقص الوراثي Genetic deficiency يتسبب في نقص مناعي شديد (SCID) Severe combined immunodeficiency مؤدياً إلى نقص في إعداد الخلايا اللمفاوية وبالتالي تتأثر كل من الإستجابتين المناعيتين الخلطية والخلوية (Yound et al., 2004; Rogers et al., 2001). يتأثر مستوى أنزيم ADA بالعوامل الممرضة المختلفة، وجد بأن فعاليته تزداد في سوائل الجسم عند الإصابة بالتدرن الرئوي (النهاري، 2003)، ولكن عند حقن الفئران المختبرية بهورمون أوكسيتوسين Oxytocin أو العقار بنتوستام Pentostam لوحظ بأن فعاليته تنخفض في مصل الدم ومجانس الطحال، بينما ترتفع تلك الفعالية في مجانس نقي العظم (الأسدي،2002، التميمي، 2004). في حين لاحظ مسعودان (2002) أن عقار ايتوبوسيد قد تسبب في انخفاض الفعالية النوعية للأنزيم في مجانس التوثة للفئران المختبرية.

2-6-5: الإنحرافات الكروموسومية

Chromosomal aberrations

تعدّ دراسة الانحرافات الكروموسية من الاختبارات الوراثية التي تستخدم للكشف عن الطفرات الحاصلة في شريط الـ د.ن. إيه DNA للخلية الحية نتيجة التعرض للعوامل الفيزيائية أو الكيميائية والتي قد تسبب انحرافات كروموسومية مما تسبب في حدوث طفرة قد تتناقلها الأجيال أو تحدث أمراضاً وراثية خطيرة مثل: متلازمة داوون syndrome Down's وغيرها. وقد تكون هذه الإنحرافات عددية Numerical changes أو تركيبية Structural changes مثل الكروموسوم الحلقي Ring والكروموسوم الثنائي الجسم المركزي Dicentric chromosome أو قد تشمل حدوث انقلاب في الكروموسوم Inversion أو انتقال Translocation (الخياط، 1999). ولقد أكدت الدراسات أن الكثير من الملوثات البيئية (المواد الكيميائية والاشعاعات المؤينة) تحدث تشوهات وكسوركروموسومية واضحة في خلايا نقي العظم مثل الكروموسوم الحلقي والكروموسوم الثنائي الجسم المركزي وحذف أجزاء من الكروموسوم (Ad'hiah et al., 2001b).وكذلك عند تعرض عمال مناجم الفحم لهذه المادة عن طريق الاستنشاق وبعد فحص عينات من دمائهم لوحظ حصول تشوهات وكسور كروموسومية وعند إعطائهم الفيتامينات بالغذاء ولا سيما فيتامين A و C وجدوا أنها اختزلت نسبة كبيرة من التشوهات الكروموسومية (Sram et al., 1983)، واثبت فيتامين C قدرة واضحة لاختزال الانحرافات الكروموسومية المستحثة بواسطة المطفر (DIHQ) في الفئران المختبرية (Ghaskadbi Vaidya. 1989) وأظهر متعدد الفيتامينات Multivitamins النتيجة نفسها حيال الانحرفات الكروموسومية الحاصلة في الفئران المختبرية نتيجة تعريضها لأشعة كاما (Barone et al., 1992) وأيضاً لعب فيتامين A الدور نفسه حيث خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية (Ames et al., 1993) واستطاع فيتامين E من أن يثبط التغيرات الكروموسومية وتغيرات الكروماتيدات الشقيقة (SCE) Sister Chromatide Exchanges (SCE) في خلايا V79 للهامستر الصيني (Mure Rossman, 2001)، وأكدت البحوث والدراسات الحالية أن الكثير من الأمراض السرطانية الخطيرة مثل سرطان الدم

Leukaemia تحدث نتيجة كسور في الكروموسومات بسبب التعرض للمواد الكيميائية كالبنزين (Piesova Sivikova,2003).

2-6-6: اختبار النوى الصغيرة

Micronucleus Test

إن النوى الصغيرة هي كتل من الكروماتين في السايتوبلازم توجد فيها نوبة صغيرة تحصل نتيجة كسور في الكروموسوم أو الفقدان الكروموسومي الكامل الذي لا ينظم مع الهيئة الكروموسومية النووية البنيوية خلال الانقسام وهذا يحدث نتيجة تعرض الخلايا المنقسمة إلى مواد كيميائية سامة وراثياً إذ يتم ملاحظة ذلك في خلايا نقي العظم المولدة لكريات الدم الحمراء وكريات الدم البيضاء الناضجة حيث تظهر مستوى التلف الوراثي (الجيني) المستحدث بواسطة الكيميائيات.

لذا اعتبر اختبار النوى الصغيرة (اختبار Schmid) نظام حيوي حساس للتسمم الوراثي بواسطة العوامل الكيميائية (Czyzewska Mazur, 1995). وضع هذا الفحص من قبل العالم (Schmid) وجماعته عام 1976 (الربيعي،2000).

إن استخدام النوى الصغيرة كنظام نموذجي لتعيين الطفرة والمضادات للطفرة الكامنة في داخل الجسم الحي in vivo أثبتت كفاءة عالية مقارنة مع بقية الاختبارات الوراثية، وأيضاً كنظام اختبار قصير الأمد حساس ومناسب لدراسة تأثيرات المواد الكيميائية المسرطنة وكمؤشر للإنحراف الكروموسومي (Ghaskadbi Vaiyda, 1991). كما أشارات دراسة حديثة عن التأثير السمي الوراثي الذي أحدثه البنزين في الخلايا اللمفاوية للإنسان عند استخدام فحص النوى الصغيرة فقد لوحظ زيادة نسبة هذه النوى (Piesova Sivikova, 2003). وفي ضوء ذلك فقد أظهر اختبار النوى الصغيرة في الكائن الحي القدرة على كشف التأثير المثبط الذي يمتلكه فيتامين C ضد المطفر CP وهذا ما يؤكد قوة وملاءمة هذا النظام النموذجي كطريقة مسح ابتدائي لعملية تعديل الطفرة في الكائن الحي (Ghaskabdi et al., 1992). وانسجاماً مع ذلك فقد أوضحت دراسة (Schwartz et al, 1994) الأثر الكبير لفيتامين A على اختزال نسبة النوى الصغيرة لدى الرجال المدخنين.

2-6-7: تشوهات رؤوس النطف

Spermhead Abnormalities

وهو فحص يستخدم للكشف عن السمية الوراثية التي تحدثها العوامل الفيزيائية والكيميائية في المادة الوراثية للخلايا الجرثومية الذكرية لإنها أكثر حساسية للمواد المطفرة أثناء تكوين النطف والتي تكون عملية متواصلة ومستمرة لذا تظهر تغيرات في الشكل الظاهري لرأس النطفة الناتجة من حدوث خلل في تمايز النطف والذي يقع تحت سيطرة وراثية (Topham, 1980). وقد اختبرت العديد من المواد الكيميائية المطفرة والمسرطنة والمعروفة على إحداث تغييرات في الخلايا الجنسية الذكرية والأنثوية مثل المواد الهايدروكاربونية كالبنزانثراسين، حيث وجد أنه

يحدث نسبة عالية من التشوهات في رؤوس النطف (الأسدي، 1988)، كما أظهر المطفر CP قدرة واضحة في زيادة نسبة تشوهات رؤوس النطف في ذكور الفئران البيضاء (الربيعي، 2000). وفي دراسة تجريبية وجدت أن فيتامين C ظهر كمضاد لأكسدة د.ن. إيه DNA النطف تزيد عن (250%) عندما تكون مستويات التغذية الحاوية على فيتامين C كفوءة لحفظ السائل المنوي بينما تقل نسبة حركة النطف في المدخنين ويمكن زيادة الحركة بأخذ جرع زائدة من فيتامين C خلال التدخين (Ames et al., 1993). وقد أشار الأسدي (1988) بأن فيتامين C يساعد على خفض نسبة التشوهات في رؤوس النطف الحاصلة من المطفر البنزانثراسين. فضلاً عن ذلك أن قص فيتامين A يسبب فشل في تكوين النطف (Cole et al., 1988).

الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3-1: المحاليل

Solutions

محلول (1): داريء الفوسفات الملحي (Phosphate Buffered Saline (PBS

أذيبت المكونات أدناه في (500 مل) من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى (1000 مل):-

0.20 غم كلوريد البوتاسيوم (KCl)

8.00 غم كلوريد الصوديوم (NaCl)

1.15 غم فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين (Na_2HPO_4)

0.20 غم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4)

وثبت الرقم الهيدروجيني (pH) عند (7.2) وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة (4م) (Hudson Hay, 1980).

محلول (2): كلوريد البوتاسيوم الواطيء الشد

KCl (0.075) Solution Hypotonic

أذيب (2.85 غم) من ملح كلوريد البوتاسيوم في (250 مل) ماء مقطر ثم أكمل الحجم إلى (500 مل) من الماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني (pH) إلى (7.2) ثم عقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة (4م) (Metcalf et a., 1986).

محلول (3): تخفيف خلايا الدم البيضاء Leukocyte Diluent Solution

حضر المحلول بإضافة (2 مل) من حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid إلى (98 مل) من الماء المقطر وأضيف إليه قطرات من صبغة أزرق المثيلين (Methylen bule) كدليل لوني وحفظ في الثلاجة (4م) (Sood, 1986).

محلول (4): المثبت Fixative Solution

حضر المحلول بمزج ثلاثة حجوم من الكحول المثيلي المطلق مع حجم واحد من حامض الخليك الثلجي وحفظ في الثلاجة (4م) واستخدم آنيا (Allen et al., 1977).

محول (5): الملحي الفسلجي Normal Saline

محلول جاهز للاستخدام تم الحصول عليه من مستشفى بغداد التعليمي والمستورد من شركة جدة للمحاليل والمواد الكيميائية، يتكون من كلوريد الصوديوم (NaCl) وبتركيز (0.90%) وتم حفظه في الثلاجة (4م).

محلول (6): بيكاربونات الصوديوم Sodium Bicarbonate Solution

أذيب (7.5 غم) من بيكاربونات الصوديوم ($NaHCO_3$) في (50 مل) ماء مقطر وأكمل الحجم إلى (100 مل) بالماء المقطر ثم حفظ في الثلاجة (4م).

محلول (7): دارىء سورنسن Sorenson's Buffer

حضر المحلول بإذابة (7.08 غم) من مادة (Na_2HPO_4) و (6.74غم) من مادة (KH_2PO_4) في (50 مل) من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى (100 مل) بالماء المقطر وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة (4م) (Yaseen, 1990).

محلول (8): هانكس الملحي المتوازن (HBSS) Hank's Balanced Salt

حضر المحلول حسب طريقة (Metcalf et a., 1986)حيث أذيبت المكونات التالية (500 مل) من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى (1000 مل) من الماء المقطر:-

8.00	غم كلوريد الصوديوم	$NaCl$
0.40	غم كلوريد البوتاسيوم	KCl
0.14	غم كلوريد الكالسيوم	$CaCl_2$
0.10	غم كبريتات المغنسيوم المائية	$MgSO_4.H_2O$
0.06	غم فوفسفات الصوديوم المائية	$Na_2HPO_4.2H_2O$
0.06	غم فوسفات البوتاسيوم المائية	KH_2PO_4
0.10	غم كلوريد المغنسيوم المائي	$MgCl_2.6H_2O$
1.00	غم دكستروز	$C_6H_{12}O_6$
0.35	غم بيكاربونات الصوديوم	$NaHCO_3$

وثبت الرقم الهيدروجيني (pH) عند (7.2) وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة (4م).

محلول (9): صبغة كمزا Giemsa Stain

جهزت الصبغة من معهد المصول واللقاحات ببغداد واستخدمت وفقاً للطريقة المرفقة مع العدة.

محلول (10): صبغة ليشمان Leishman Stain

جهزت الصبغة من معهد المصول واللقاحات ببغداد واستخدمت وفقاً للطريقة المرفقة مع العدة.

محلول (11): صبغة الايوسين Eosin Stain

حضر المحلول بإذابة (1غم) من صبغة الايوسين الصفراء (Eosin Yellowish) في (100 مل) من الماء المقطر (Wyrobek Burce, 1975).

محلول (12): صبغة تريبان الزرقاء Trypan Blue Stain

حضر المحلول بإذابة (0.5 غم) من مسحوق الصبغة في (100 مل) من المحلول (محلول رقم 5) ورشحت الصبغة عدة مرات قبل استخدامها (Metcalf et a., 1986).

محلول (13): كولجسين Cholchicin Solution

أذيبت حبة واحدة من الكولجسين ذات وزن (1ملغم) في (0.5 مل) من PBS (محلول رقم 1) المعقم واستخدم آنيا بعد تحضيره بحقن كل حيوان بـ (0.25 مل) من هذا المحلول في غشاء الخلب (Intraperitioeal injection).

محلول (14): فيتامين A

حضرت ثلاثة جرع من فيتامين A (2.1,1.4,0.7 ملغم/ كغم) بالإعتماد على الجرعة الموصى بها عالمياً للإنسان (1.4 ملغم/ كغم) من قبل منظمة الصحة العالمية (Giacosa et a., 1997) حيث أذيب الفيتامين (معمل أدوية سامراء) في زيت الذرة لغرض الحصول على الجرعة المطلوبة.

محلول (15): فيتامين C

حضرت ثلاثة جرع من فيتامين C (180, 120, 60 ملغم / كغم) بالاعتماد على الجرعة الموصى بها عالمياً للإنسان (120 ملغم/ كغم) من قبل منظمة الصحة العالمية (Giacosa et al., 1997) حيث أذيب الفيتامين (معمل أدوية سامراء) بالماء المقطر لغرض الحصول على الجرعة المطلوبة.

محلول (16): فيتامين E

حضرت ثلاثة جرع من فيتامين E (30, 20, 10 ملغم / كغم) بالاعتماد على الجرعة الموصى بها عالميا للانسان (20 ملغم/ كغم) من قبل منظمة الصحة العالمية (Giacosa et al., 1997) حيث أذيب الفيتامين (معمل أدوية سامراء) في زيت الذرة لغرض الحصول على الجرعة المطلوبة.

محلول (17): العقار المثبط للجهاز المناعي Etoposide

حضر المحلول بإضافة (0.1 مل) من سائل الزجاجة الحاوية على عقار Etoposide (20 ملغم /مل) وخفف إلى (11.7 مل) من الماء المقطر وذلك للحصول على نسبة 10% (0.17 ملغم / كغم) من الجرعة القاتلة للفئران (LD50 = 1.75 ملغم/ كغم) عن طريق الفم (Garcia, 1998). ثم حفظ المحلول المخفف في الثلاجة (4م) لحين الاستعمال.

محلول (18): دارىء الفوسفات المنظم phosphate Buffer Solution

حضر المحلول آنيا بإذابة (4.73 غم) من فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين (Na2HPO4.H2O) و (5.62 غم) من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين

($NaH_2PO_4.H_2O$) في (1000 مل) من الماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني إلى (6.5) بوساطة حامض الفوسفوريك (H_3PO_4) وحفظ في الثلاجة (4م) (Hudson Hay, 1980).

محلول (19): الادينوسين المنظم Adenosine Buffer Solution

حضر المحلول آنيا بأخذ (15 مل) من (محلول رقم 18) وأضيف إليه (140 ملغم) ادينوسين ($C_6H_{13}N_5O_4$) ووضع في حمام مائي (37م) لمدة (15 دقيقة) ثم برد في ماء ثلجي وعدل الرقم الهيدروجيني إلى (6.5) بوساطة حامض الفسفوريك وأكمل الحجم إلى (25 مل) بدارىء الفوسفات المنظم.

محلول (20): خزين لكبريتات الأمونيا Ammouium Sulpate Stock Solution

حضر المحلول بإذابة (1.98) من كبريتات الأمونيوم في (500 مل) من الماء المقطر اللأيوني وأكمل الحجم إلى (1000 مل) من الماء المقطر اللأيوني ومزج جيداً باستخدام ماصة باستور وحفظ في الثلاجة (4م).

محلول (21): القياسي لكبريتات الامونيوم

Sulphate Standard Amonium Solution

حضر المحلول بأخذ (0.5 مل) من (محلول رقم 20) وخفف إلى (100 مل) بوساطة (محلول رقم 1) ومزج جيداً باستخدام ماصة باستور وحفظ في الثلاجة (4م).

محلول (22): نتروبروسيد الفينول Phenol Nitroprusside Solution

حضر المحلول آنيا بإذابة (10 غم) من الفينول (C_6H_2O) و (50 ملغم) من نتروبروسيد الصوجيوم {Na2(Fe (Cn)5 No) 2H2O} في (500 مل) من الماء المقطر اللايوني وأكمل الحجم إلى (1000 مل).

محلول (23): هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxid Solution

حضر المحلول آنيا بأخذ (40 غم) من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) تركيز (1N) وذوب في (500 مل) من الماء المقطر اللايوني وأكمل الحجم إلى (1000 مل).

محلول (24): الهايبوكلوريت القلوي Alkaline Hypochlorite Solution

مزج (125 مل) من (محلول رقم 20) مع (16.4 مل) من محلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl بتركيز (5%) مع (500 مل) من الماء المقطر اللايوني ثم أكمل الحجم إلى (1000 مل). حضرت المحاليل (19-24) ومن (Giusti, 1981).

محلول (25): عالق الخميرة المقتولة

حضرت الخميرة لغرض دراسة عملية البلعمة وبحسب طريقة (Metcalf et al., 1986) مع إجراء بعض التعديلات. حيث استخدمت لهذا الغرض خميرة الخبز الجافة Saccharomyces cervisia ماركة (باكمايا). حيث علق (10 غم) من الخميرة في (150 مل) من المحلول الفسيولوجي (محلول رقم 5) ووضع العالق في حمام مائي يغلي لمدة ساعة وبعدها برد العالق ورشح عبر شاش ثنائي الطبقة وعدت الخلايا باستعمال Hemocytometer حيث ضبط العدد

إلى (10 خلية/ مل) وقسم العالق على أنابيب صغيرة سعة (5 مل) ثم حفظت في المجمدة (20-م)، وعند الاستعمال ذوبت محتويات الأنبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة (37 م) وغسلت بالمحلول الفسيولوجي مرتين قبل استخدامها في اختبار معامل البلعمة.

محلول (26): مصل الدم AB للإنسان

جهز مصل الدم للإنسان من صنف AB من المركز الوطني لنقل الدم/ بغداد وقسم إلى أحجام متساوية في أنابيب معقمة وحفظ في درجة حرارة (20-م) لحين استعمالة في فحص البلعمة كمواد طاهية (Opsonins).

3-2: الحيوانات المختبرية

Laboratary Animals

لقد استخدمت ذكور الفئران البيضاء (Mus musculs) من الضرب (Balb/C) وبمعدل عمر يتراوح بين (12-9) أسبوع وبوزن (3+25 غم) والتي جهزت من قبل مركز البحوث الطبية لكلية الطب جامعة النهرين في بغداد ووزعت في أقفاص لدائنية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة وقد أعطيت الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة القيمة الغذائية والمصنعة محلياً من قبل مركز آباء للأبحاث الزراعية في أبي غريب/ بغداد.

3-3: تصميم التجارب

Experimental Design

صممت التجارب بهدف تقييم الدور الذي تؤديه الفيتامينات A وC وE في حماية المادة الوراثية لذكور الفئران البيضاء وتطوير فعالية الجهاز المناعي في هذه الحيوانات، لذلك تضمنت الدراسة مرحلتان أساسيتان:-

المرحلة الأولى:- تضمنت هذه المرحلة دراسة التأثيرات الوراثية والمناعية لهذه الفيتامينات، لذلك قسمت الحيوانات إلى إحدى عشرة مجموعة:-

1- المجموعة الأولى:- وهي مجموعة الحيوانات المجرعة بعقار مطفر وراثياً (Mutagenic) ومثبط للجهاز المناعي، وهذا العقار هو ايتوبوسيد Etoposide (سيطرة موجبة).

2- المجموعة الثانية: جرّعت حيوانات هذه المجموعة بالماء المقطر (سيطرة سالبة أولى).

3- المجموعة الثالثة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بزيت الذرة (سيطرة سالبة ثانية).

4- المجموعة الرابعة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بالماء وزيت الذرة (سيطرة سالبة ثالثة).

5- المجموعة الخامسة:- تضمنت هذه المجموعة ثلاث مجموعات ثانوية، حيث جرّعت حيواناتها بثلاث جرع من فيتامين A (2.1.1.4. 0.070 ملغم/ كغم).

6- المجموعة السادسة:- تضمنت هذه المجموعة ثلاث مجموعات ثانوية، حيث جرّعت حيواناتها بثلاث جرع من فيتامين C 180.120.60) ملغم/ كغم).

7- المجموعة السابعة:- تضمنت هذه المجموعة ثلاث مجاميع ثانوية، حيث جرّعت حيواناتها بثلاث جرع من فيتامين E (30,20,10 ملغم/ كغم).

وفي ضوء نتائج المجموعات الخامسة والسادسة والسابعة، اختيرت الجرع الأمثل من كل فيتامين لغرض إجراء التداخل ما بين هذه الفيتامينات في تجارب المجاميع اللاحقة.

8- المجموعة الثامنة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بفيتامين A (1.4 ملغم/ كغم) وفيتامين C (180 ملغم/ كغم) في آن واحد وبعد تنصيف الجرعة لكل فيتامين.

9- المجموعة التاسعة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بفتيامين A (1.4 ملغم/ كغم) وفيتامين E (10 ملغم/ كغم) في آن واحد وبعد تنصيف الجرعة لكل فيتامين.

10- المجموعة العاشرة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بفيتامين C (180 ملغم/ كغم) وفيتامين E (10 ملغم/ كغم) في آن واحد وبعد تنصيف الجرعة لكل فيتامين.

11- المجموعة الحادية عشرة:- جرّعت حيوانات هذه المجموعة بالفيتامينات A (1.4 ملغم/ كغم) وفيتامين C (180 ملغم/ كغم) وفيتامين E (10 ملغم/ كغم) في آن واحد، وشكلت جرعة كل فيتامين نسبة 33% من الجرعة الكلية.

جرّعت جميع حيوانات هذه المجاميع عن طريق الفم (Orally) وكان حجم الجرعة الواحدة 0.25 مل. كان التجريع يومياً ولمدة أسبوع، حيث شُرّحت الحيوانات لغرض إجراء الفحوصات الوراثية والمناعية في اليوم الثامن، وخصص لذلك أربعة حيوانات للفحوصات الوراثية وأربعة أخرى للفحوصات المناعية، وبالتالي بلغ العدد الكلي للحيوانات المدروسة في هذه المرحلة 136 فأراً. تجدر الإشارة هنا إلى سبب استخدام ثلاث مجموعات للسيطرة السالبة، وذلك لإن قسماً من هذه الفيتامينات ذائبة في الماء (فيتامين C) والأخرى ذائبة في الزيت (فيتامينا A و E).

المرحلة الثانية:- في هذه المرحلة أجري نوعان من التداخل ما بين العقار ايتوبوسيد Etoposide الجرعة الأمثل لكل فيتامين أو الجرع المثلى للفيتامينات المتداخلة، وبالتالي كانت هناك سبعة مجاميع (E +C+A, E+C,E+A, C+A,E,C,A). كان النوع الأول من التداخل تجريع الحيوانات بالفيتامينات بجرعة واحدة يومياً لمدة أسبوع (pre-treatment) ثم إعطاء العقار في اليوم الثامن، وشرحت الحيوانات في اليوم التاسع. أما النوع الثاني من التداخل فقد كان تجريع الحيوانات بجرعة واحدة من العقار، وبعد 24 ساعة جرّعت الحيوانات بجرعة واحدة من الفيتامينات يومياً ولمدة أسبوع، ثم شرحت في اليوم التاسع (Post-treatment). وفي كلا الحالتين استخدمت حيوانات سيطرة بعد تجريعها بالماء المقطر أو الزيت بدلاً من الفيتامينات، بلغ عدد الحيوانات في هذه المرحلة 144 فأراً.

3-4: الطرائق المختبرية

Laboratory Methods

تضمنت الطرائق المختبرية إجراء بعض الفحوصات المناعية والوراثية في الحيوانات المختبرية.

3-4-1: العد الكلي لخلايا الدم البيضاء

Total count of leukocytes

اتبعت طريقة (Haen, 1995) وكالآتي:-

نظّفت شريحة العد (Neubauer chamber) والماصة الخاصة بتخفيف خلايا الدم البيضاء ثم سحبت عينة من الدم إلى العلامة (0.5) وخفّف بمحلول تخفيف خلايا الدم البيضاء (محلول رقم 3) إلى العلامة (1) ثم مزج محلول التخفيف مع عيّنة الدم لمدة (5 دقائق) بعد ذلك تم التخلص من اثنتين إلى ثلاث قطرات من الدم المخفف ثم وضعت قطرة واحدة على حافة شريحة العد وتركت الشريحة مدة دقيقتين لكي تستقر الخلايا وبعدها حسب عدد خلايا الدم البيضاء باستخدام المعادلة الآتية:-

عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) = عدد الخلايا المحسوبة في أربع مربعات كبيرة × تصحيح الحجم× تصحيح التخفيف /4.

3-4-2: العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء

Differential Count of Leukocytes

أخذت قطرة من الدم وفرشته على شريحة زجاجية وباستخدام زجاجية أخرى لغرض عمل مسحة دميّة (Blood smear) ثم تركت المسحة لتجف، وبعد ذلك صبغت بصبغة ليشمان (Leishman Stain) لمدة دقيقتين ثم أضفت دارىء ليشمان (Leishman buffer) وتركته لمدة (5 دقائق) ثم غسلتها بالماء الجاري وتركتها لتجف. ثم فحصت كل الشرائح المحضّرة باستخدام العدسة الزيتية وعددت على الأقل 100 خلية بيضاء بصورة عشوائية ثم حسبت النسبة المئوية لكل نوع. أما إعداد هذه الخلايا فقد حسبت باستخدام المعادلة الآتية:-

عدد الخلايا (خلية/ ملم3 دم) = (العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء× نسبة الخلايا) /100

3-4-3: البلعمة

Phagocytosis

تعد عملية البلعمة مقياساً للاستجابة المناعية الخلوية اللانوعية وأجريت في الزجاج (in vitro) وبحسب طريقة (Metcaf et a., 1986) مع إجراء بعض التعديلات وكالآتي:-

1-بعد تخدير الحيوان، حقن الفأر بحجم (3 مل) من المحلول رقم (8) في منطقة الخلب (Intraperitoneial) وبعد المساج لمنطقة الحقن لمدة (3 دقائق) شرّح الحيوان، وبواساطة محقنة باستور جمع المحلول البريتوني ووضع في أنبوب زجاجي.

2- نبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/ دقيقة) لمدة (5 دقائق).

3- علق الراسب في (1 مل) من المحلول رقم (8) وعدت الخلايا وضبط التركيز إلى (107 خلية/ مل).

4- أخذ (0.2 مل) من معلّق الخلايا وأضيف إليه (0.1 مل) من معلّق الخميرة ومزجا جيداً ثم اضيف إليه (0.1 مل) من مصل دم الإنسان AB ومزج أيضاً ووضع في حمام مائي بدرجة حرارة (37 م) لمدة نصف ساعة.

5-وضعت قطرة من معلق الخلايا على شريحة عدد الخلايا Hemocytometer وحسبت الخلايا الملتهمة وغير الملتهمة (على الأقل 100 خلية)، ثم حسب معامل البلعمة (Phagocytic index) لكل جرعة وبهيئة نسبة مئوية بعد أن كرر الحساب على الأقل ثلاث مرات.

معامل البلعمة (%)= }(عدد الخلايا الملتهمة/ العدد الكلي للخلايا){ ×100

كررت عملية الحساب بعد مرور ساعة أيضاً.

3-4-5: معامل الإنقسام والانحرافات الكروموسومية

Mitotic Index Chromosomal Aberrations

أجري اختبار معامل الإنقسام بحسب طريقة (Allen et al., 1977) إذ حقن كل فأر (0.25 مل) من محلول الكلولجسين عن طريق غشاء الخلب، وبعد مرور (2.5 ساعة) ضحي بالحيوان بطريقة فصل النخاع الشوكي من العنق وشرح مباشرة لغرض الحصول على الخلايا الجسمية من نقي العظم والتوثة والطحال وكما يأتي:-

1- شرح الحيوان وذلك بقص الجلد مباشرة واستخرجت الأعضاء من مواقعها.

2-باستعمال محقنة معقمة و (5 مل) من المحلول رقم (1) استخرجت الخلايا من نقي العظم والتوثة والطحال وكل على حدة.

3- نبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/ دقيقة) لمدة (5 دقائق).

4- ازيل الطافي وأضيف إلى الراسب (10 مل) من المحلول رقم (2) ثم حضّنت الأنابيب في حمام مائي هزاز بدرجة (37 م) ولمدة (30 دقيقة).

5- نبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/ دقيقة) ولمدة (5 دقائق).

6- ازيل الطافي وأضيف إلى الراسب (5 مل) من المحلول المثبت (محلول رقم 4) المحضر آنيا بالتدريج على شكل قطرات تنسال على الجدار الداخلي للأنبوب مع المزج المستمر ثم اكمل حجم المثبت المضاف ليصل إلى (5 مل).

7- وضعت الأنابيب بدرجة حرارة (4 م) لمدة نصف ساعة لغرض تثبيت الخلايا. أعيدت عملية التثبيت ثلاث مرات.

8- نبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/ دقيقة) ولمدة (5 دقائق)، ثم ازيل المحلول الطافي وعلقت الخلايا مرة أخرى في حجم مناسب (2-1مل) من المثبت البارد.

9- رجّت الأنابيب الحاوية على الخلايا المثبتة وتم إسقاط (8-6) قطرات من محتويات الأنبوبة على شريحة زجاجية نظيفة بصورة عمودية من مسافة حوالي (3 أقدام) لإتاحة الفرص للخلايا للانتشار بشكل جيد ثم جففت الشرائح على صفيحة ساخنة (50م).

10- صبغت الشرائح بصبغة كمزا لمدة (15 دقيقة) ثم غسلت بالماء المقطر وتركت لتجف، وفحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي الاعتيادي بالعدسة الزيتية حيث تم فحص (1000 خلية) وحسبت الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة منها واستخرج معامل الانقسام لكل عضو وفق المعادلة التالية:

معامل الانقسام (%)= } عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلي للخلايا (المنقسمة وغير المنقسمة){ 100×

أما بالنسبة للانحرافات الكروموسومية فقد حسبت بهيئة (زيغ كروموسومي/ خلية) بعد أن فحصت على الأقل 25 خلية واضحة وفي الطور الاستوائي من الانقسام. شملت الانحرافات الكروموسومية: كسر كروماتيدي وكروموسوم ثنائي القطعة المركزية والكروموسوم الحلقي.

3-4-6: فحص النوى الصغيرة

Micronucleus Assay

لغرض إجراء هذا النقص فقد اعتمدت طريقة (Schmid, 1976) مع بعض التحوير وبحسب الخطوات الآتية:-

1- أخذ عظم الفخد أو الكتف للفئران التي شرحت لدراسة معامل الإنقسام والانحرافات الكروموسومية حيث ازيل الجلد والعضلات المحيطة بالعظام بعد ذلك قصت نهايتي العظم ومن ثم غسل محتوى هذا العظم بواسطة محقنة باستعمال (2 مل) من المصل البشري (AB human serum) الذي أجري له عملية Heat inactivation في درجة حرارة (56م) لمدة نصف ساعة.

2- نبذت الأنابيب الحاوية على خلايا نقي العظم بواسطة جهاز النابذة وبسرعة (1000 دورة / دقيقة) لمدة (10 دقائق).

3- أخذ الراسب وأهمل الطافي ووضعت قطرة صغيرة منه على حافة شريحة زجاجية وعملت منها مسحة Smear.

4- تركت الشرائح لتجفّ بدرجة حرارة الغرفة وبعد ذلك ثبتت الخلايا بالكحول المثيلي لمدة دقيقة واحدة إلى دقيقتين.

5- بعد أن جّفت الشرائح، صُبغت بصبغة كمزا لمدة (10 دقائق) وبعد ذلك غسلت بدارىء سورنس Sorenson's buffer.

6- فحِصت الشرائح بعد أن جفّت وباستخدام العدسة الزيتية حيث تم حساب النسبة المئوية لظهور النوى الصغيرة في (500 خلية) من نوع (Polychromatic erythrocytes).

3-4-7: فحص تشوهات رؤوس النطف

Sperm head abnormality assay

شرحت الفئران واستخرجت النطف من البرنج (Epididymis) وباستخدام طريقة (Wyrobek Bruce, 1975) وبحسب الخطوات الآتية:

1- قطع البربخ ووضع في طبق بتري حاوي على (5 مل) من المحلول رقم (1) وباستخدام شفرة حادة وملقط دقيق تم تقطيع البربخ إلى أجزاء صغيرة جداً ووضع المحلول الحاوي على تلك الأجزاء في أنبوبة اختبار نظيفة.

2- حضّرت شرائح زجاجية نظيفة وفُرشت قطرة من المحلول الذي في الأنبوبة على الشريحة الزجاجية، ثم تركت الشرائح على صفيحة ساخنة (50 م) لتجف.

3- صُبغت الشرائح الزجاجية الجافة بصبغة الايوسين (Eosis 1%) لمدة (3-1 دقائق) وبعدها أزيلت الصبغة الزائدة بغسل الشرائح بالماء المقطر.

4- فحصت الشرائح بعد أن جفت بالمجهر الضوئي وباستخدام العدسة الزيتية إذ تم حساب النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف من خلال فحص (1000 نطفة) ومقارنة أشكال تلك النطف مع الشكل الطبيعي لرأس نطفة الفار من الضرب Balb/c.

3-4-8: قياس فعالية أنزيم ADA في مجانسة خلايا التوثة

Adenosine Deaminase Activity Assay

قيست فعالية الأنزيم ADA في مجانس خلايا التوثة. حيث بعد أن استؤصلت الغدة من الحيوان استخرجت الخلايا منها وضبط تركيزها إلى (610×1 خلية/مل) باستخدام محلول دارىء الفوسفات المنظم (محلول رقم 18). ثم وضع معلّق الخلايا في المجمدة (20-م). ولغرض قياس فعالية الأنزيم في معلق الخلايا؛ فقد أعيدت عملية التجميد والتذويب عدة مرات (Freezing

Thawing) لغرض ضمان تكسير معظم الخلايا. قيست فعالية الأنزيم في محلول مجانس الخلايا بحسب طريقة (Giusti, 1981) والموضحة في

الجدول(1-3):-

الجدول (1-3): طريقة قياس الفعالية الحجمية للأنزيم ADA

أنابيب الكواشف	الكفء الكاشف (مل)	القياسي (مل)	كفء ADA (مل)	كفء العينة (مل)	العينة (مل)
محلول داريء الفوسفات	1.0	____	____	1.0	____
محلول داريء الاديونوسين	____	____	1.0	____	____
المحلول القياسي لكبريتات الامونيوم	____	1.0	____	____	____
العينة	____			0.05	1.0
الماء المقطر اللايوني	0.05	0.05	0.05	____	0.05

مزجت المحتويات انيا وحضنت لمدة (60 دقيقة) في درجة حرارة (37م)

محلول نتروبروسيد الفينول	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
محلول هايبوكلورايت القلوي	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

أضيفت المحاليل الأخيرة للتلوين ومزجت جيدا بالمازجة (Vortex) وحضّنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة (37م) لمدة (30 دقيقة) ثم قرئت الامتصاصية للعينات باستعمال جهاز Spectrophotometer تحت طول موجي (623 نانوميتر) مصفر بالماء المقطر. وفي ضوء ذلك قيست الفعالية الحجمية للأنزيم ADA وكما يلي:-

الفعالية الحجمية = 50× C/A-B وحدة / لتر (37م).

A= العينة = كفء العينة.

B= كفء الادينوسين-كفء الكاشف.

C= القياسي – كفء الكاشف.

3-4-9: قياس تركيز البروتين الكلي

Total Protein Estimation

قيس مستوى البروتين الكلي في مجانس خلايا التوثة باستخدام العدة الجاهزة المحضرة من قبل شركة (Diamond) الأردنية والذي يحتوي على المحاليل التالية:

1-دارىء كاشف البيوريت (RI) Buffer biuret reagent ويتكون من:

0.30 ملي مول/ لتر هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide

0.07 مول ايوديد البوتاسيوم Potasium Iodide

0.016 مول كبريتات النحاس Cupric Sulphate

0.045 مول ترترات الصوديوم- البوتاسيوم Na-K-tartart

2- المحلول القياسي (Standard solution) ويتكون من:

50 غم/لتر الزلال البقري Bovine albumin أو

5 غم/دسم لتر الزلال البقري Bovine albumin

ولغرض قياس مستوى البروتين جهزت ثلاثة أنابيب اختبار تمثل الأولى انبوبة كاشف الكفء (Reagent blank)، والثانية القياسي (Standard)، والثالثة تمثل العينة (Sample). وقد اضيفت المحاليل كما موضح في الجدول (3-2).

جدول (3-2): طريقة قياس تركيز البروتين الكلي في مجانسة خلايا التوثة

أنابيب الكواشف	الكاشف الكفء (مل)	القياسي (مل)	العينة (مل)
الماء المقطر اللايوني	0.02	______	______
القياسي (R2)	______	______	______

العينة	———	———	0.02
الكفىء (R1)	1.0	1.0	1.0

مزجت المكونات لكل أنبوب ثم حضّنت لمدة 10 دقائق في حمام مائي بدرجة حرارة (37م) وبعد ذلك تم قياس الامتصاصية لكلّ عيّنة وعلى طول موجي 550 نانوميتر، ثم حسب التركيز الكلي للبروتين وفق المعادلة الآتية:

التركيز الكلي للبروتين (غم/لتر) = (حجم العينة/ حجم القياسي) × تركيز القياسي

وحدّدت الفعالية النوعية Specific activity لأنزيم ADA وفقاً للمعادلة الآتية:

الفعالية النوعية (وحدة/ملغم بروتين)= الفعالية الحجمية/ التركيز الكلي للبروتين

3-5: الطرائق الإحصائية

تم تحليل النتائج احصائياً باعتماد أحد الأنظمة الإحصائية والمسمى (SPSS) وفقاً للنموذج الإحصائي لتحليل التباين باتجاه واحد (one way ONOVA test) مع استخدام أقل فرق معنوي (Least significance differences) واختبار (T-test) لمعرفة وجود فروق معنوية بين الجرع المختلفة وثبتت القيم على شكل (المعدل + الخطأ القياسي).

الفصل الرابع : النتائج

Results

4-1: التأثيرات المناعية للفيتامنيات A وC و E

درست التأثيرات المناعية للفيتامينات A و C و E في ذكور الفئران البيضاء من خلال عدد من المعايير والتي شملت العد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيضاء ومعامل انقسام خلايا نقي العظم والتوثة والطحال ومعامل البلعمة والفعالية النوعية للأنزيم ADA في مجانس خلايا التوثة.

4-1-1: العد الكلي لخلايا الدم البيضاء

بينت النتائج في الجدول (1-4) بأن المعاملة بقعار الايتوبوسيد Etoposide أدى إلى انخفاض العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء حيث بلغ (4.1×10 3 خلية/ ملم 3 دم) عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (8.5×10 3 خلية/ملم3 دم) في ذكور الفئران البيضاء بحيث شكل هذا فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.01). وعند إعطاء فيتامين A بجرعة (0.7 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (9.9×310 خلية/ملم 3 دم). اكتسبت هذه الزيادات فروقاً معنوية عند مستوى الدلالة (أ< 0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الثانية (زيت الذرة) والتي كان معدل العد فيها (6.5×310 خلية/ ملم3 دم).

وعند إعطاء فيتامين C بجرعة (60 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (9.1×310 خلية/ ملم 3 دم) إلا أن الفرق لم يكتسب الدلالة الإحصائية (أ> 0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة الأولى ومع زيادة جرعة الفيتامين إلى (120 ملغم/ كغم) ارتفع المعدل إلى (4.3×310 خلية/ ملم 3 دم) وكذلك الحال عند إعطاء الجرعة الثالثة للفيتامين (180 ملغم/ كغم) حيث بلغ المعدل (14.9×310 خلية/ ملم3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ< 0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الأولى (ماء مقطر).

وعند إعطاء فيتامين E بجرعة (10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (7.4×310 خلية/ ملم3 دم)، وعند إعطاء الجرعة الثالثة للفيتامين (30 ملغم/ كغم) بلغ المعدل (8.8×310 خلية/ ملم 3 دم) والذي اكتسب الفرق فيه الدلالة الإحصائية (أ< 0.01) عند المقارنة بالسيطرة السالبة الثانية.

وتشير النتائج في الجدول (1-4) بأن التداخل بين الفتيامنيات أدى إلى زيادة العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء حيث سجل التداخل لفيتامينا A+C بجرعة (1.4+180 ملغم/ كغم) زيادة في المعدل حيث بلغ (11.5×310 خلية/ ملم 3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ< 0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الثالثة والتي كانت (7.0×310 خلية/ ملم 3دم). وعند إعطاء فيتامينا A+ E بجرعة (1.4+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (12.9×310 خلية/ ملم 3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقاً معنوياً عند مستوى الدلالة (أ< 0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الثالثة. وعند إعطاء فيتامينا C+ E بجرعة (180+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (13.5×310 خلية/ ملم 3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ< 0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الثالثة. وعند

إعطاء الفيتامنيات E+C+A بجرعة (1.4+180+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ (13.3×310 خلية/ ملم3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ<0.01) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة الثالثة.

جدول 1-4: معدل عدد خلايا الدم البيضاء في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) ×310		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	4.1	1.0	•·
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	8.5	0.2	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	6.5	0.3	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	7.0	0.3	
الخامسة	فيتامين A (0.7)	4	9.5	0.5	•·
	(1.4)	4	9.9	0.2	•·
	(2.1)	4	8.3	0.3	•·
السادسة	فيتامين C (60)	4	9.1	0.5	▲
	(160)	4	14.3	0.5	••
	(180)	4	14.9	0.6	••
السابعة	فيتامين E (10)	4	7.4	0.3	•

المجموعة	المعاملة	العدد	المعدل	الخطأ القياسي	المعنوية
	(20)	4	7.8	0.3	•
	(30)	4	8.8	0.2	••
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	11.5	0.8	••
التاسعة	فيتامينا A (1.4) (+ C (10	4	12.9	0.7	••
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	13.5	0.8	••
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E ((10	4	13.3	0.8	••

• الاحتمالية < 0.05 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

•• الاحتمالية < 0.01 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

▲ الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-2: العدد التفريقي لخلايا الدم البيضاء

4-1-2-1: الخلايا اللمفاوية

تشير النتائج في الجدول (2-4) إلى وجود انخفاض في معدل الخلايا اللمفاوية عند المعاملة بعقار Etoposide والتي كانت (1.6×310 خلية/ ملم 3دم) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (5.9×310 خلية/ ملم 3 دم) وهذا شكل فرقا معنوياً عند مستوى دلالة (أ< 0.01).وعند إعطاء فيتامين A بجرعاته الثلاث أظهر زيادة في هذا المعدل فقد سجل في الجرعة الأولى (5.6×310 خلية/ ملم3 دم) والجرعة الثانية (6.3×310 خلية/ ملم3 دم) والجرعة الثالثة (5.6×310 خلية/ ملم 3دم) واكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ< 0.01) المقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي كانت (3.2×310 خلية/ ملم 3 دم).

وتشير النتائج في الجدول (2-4) أنه عند إعطاء فيتامين C الجرعة الأولى لم يظهر اختلاف معنوي (أ> 0.05). أما الجرعة الثانية فبلغ (7.9×310 خلية/ ملم3 دم) والجرعة الثالثة بلغ (8.8×310 خلية/ملم 3 دم) واكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ< 0.05) (أ< 0.01) على التوالي مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى. وعند إعطاء فيتامين E بجرعه الثلاث

أظهرت الجرّعتين الأوليتين زيادة في المعدل فقد سجلت الجرعة الأولى (4.9×310 خلية/ ملم3 دم) والجرعة الثانية (4.9×310 خلية/ ملم3 دم) بحيث شكلت الزيادة فروقاً معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية. في حين لم تظهر الجرعة الثالثة فروقا معنوية ذات دلالة احصائية (أ>0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية.

وتشير النتائج في الجدول (2-4) أنه عند إعطاء الفيتامينات متداخلة مع بعضها أدت إلى زيادة الخلايا اللمفاوية؛ فعند إعطاء فيتامينا A+C بجرعة (1.4+180 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة بالمعدل حيث بلغ (6.1×310 خلية/ ملم3 دم) اكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ> 0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة والتي كانت (4.5×310 خلية/ ملم3دم). وعند إعطاء فيتامينا A+E بجرعة (1.4+10ملغم/ كغم) لوحظ زيادة بالمعدل حيث بلغ (7.3×310خلية/ ملم3 دم) واكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة. وعند إعطاء فيتامينا C+E بجرعة (180+10ملغم/ كغم) لوحظ زيادة بالمعدل حيث بلغ (6.7×310خلية/ملم3دم) واكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة. وهذا ما لوحظ عند إعطاء الفيتاميناتA+C+E بتركيز (1.4+180+10 ملغم/كغم) حيث حصلت زيادة بالمعدل (7.9×310 خلية/ملم3دم) واكتسبت الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة.

جدول 2-4: معدل عدد الخلايا اللمفاوية في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) ×310)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	1.6	1.0	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	5.9	0.6	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	3.2	0.3	
الرابعة	ماء مقطر +	4	4.5	0.3	

المجموعة	المعاملة	العدد	المتوسط	الخطأ	المعنوية
	زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)				
الخامسة	فيتامين A (0.7) (1.4) (2.1)	4 4 4	5.6 6.3 5.1	0.5 0.4 0.2	** ** **
السادسة	فيتامين C (60) (160) (180)	4 4 4	5.9 7.9 8.8	0.6 0.7 0.6	▲ ** **
السابعة	فيتامين E (10) (20) (30)	4 4 4	4.9 4.9 3.5	0.3 0.2 0.2	* * ** ▲
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	6.1	0.4	**
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C (10)	4	7.3	0.7	**
العاشرة	فيتامينا C (180) +E(10)	4	6.7	0.3	**
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E (10)	4	7.9	0.4	**

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

■ الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-2-2:الخلايا العدلة

بيّنت النتائج المدوّنة في الجدول (3-4) أن المعاملة بعقّار Etoposide (السيطرة الموجبة) أدت إلى انخفاض في معدل الخلايا العدلة بلغت (1.1×310خلية/ ملم3 دم) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي بلغت (2.1×310خلية/ ملم 3دم) وهذا شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ< 0.05). بينما أدى إعطاء فيتامين A بثلاثة جرع إلى زيادة المعدل فكان للجرعة الأولى (2.9×310 خلية/ ملم 3دم) وللجرعة الثانية (3.7×310 خلية/ ملم3دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ<0.05 و <0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي كانت (2.4×310خلية/ ملم3 دم).

وأظهرت النتائج الموضحة في الجدول (3-4) عند إعطاء فيتامين C بثلاث جرع أدى إلى زيادة المعدل فكان للجرعة الأولى (2.9×310 خلية/ملم3 دم) وللجرعة الثانية (3.4×310خلية/ ملم3دم) بينما الجرعة الثالثة بلغ المعدل (4.2×310خلية/ ملم3دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ<0.05 و <0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى.

وأظهرت النتائج الموضحة في الجدول (3-4) إن إعطاء فيتامين E بثلاث جرع أدى إلى زيادة المعدل فكان للجرعة الأولى (3.0×310 خلية/ ملم3دم) وللجرعة الثانية (2.5×310خلية/ ملم3دم) وللجرعة الثالثة (2.3×310 خلية/ ملم3 دم) لم تظهر هذه الزيادات فروقا بدلالة إحصائية (أ> 0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية.

وأظهرت النتائج الموضحة في الجدول (3-4) أنه عند إعطاء الفيتامينات المتداخلة مع بعضها أدت إلى زيادة معدل عدد الخلايا العدلة فعند أعطاء فيتامينا A+C بجرعة (1.4+180 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل بلغ (3.6×310خلية/ ملم3 دم) وعند إعطاء فيتاميني A+E بجرعة (1.4+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل بلغ (4.3×310خلية/ ملم3 دم) وعند إعطاء فيتاميني C+E بجرعة (180+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل بلغ (3.9×310 خلية/ ملم 3دم) وعند إعطاء الفيتامينات A+C+E وبجرعة (1.4+180+10 ملغم/ كغم) لوحظ زيادة في المعدل بلغ (4.2×310 خلية/ ملم3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقاً معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة

جدول 3-4: معدل عدد الخلايا العدلة في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) ×310)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	

الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	1.1	0.2	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	2.1	0.1	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	2.4	0.1	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	2.2	0.3	
الخامسة	فيتامين A ((0.7 (1.4) (2.1)	4 4 4	2.9 3.7 3.9	0.2 0.4 0.1	* ** **
السادسة	فيتامين C ((60 (160) (180)	4 4 4	2.9 2.5 2.3	0.4 0.6 0.6	* ** **
السابعة	فيتامين E ((10 (20) (30)	4 4 4	3.0 2.5 2.3	0.5 0.3 0.2	■ ■ ■
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C 4(180)	4	3.6	0.6	**

التاسعة	فيتامينا A + C (1.4) ((10	4	4.3	0.8	**
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	3.9	0.8	**
الحادية عشرة	فيتامينات A +C (1.4) +E (180) ((10	4	4.2	0.2	**

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

**الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-2-3: الخلايا وحيدة النوى

وبيّنت النتائج الموضحة في الجدول (4-4) أن المعاملة بعقّار Etoposide أدت إلى انخفاض في معدل عدد الخلايا وحيدة النوى (107.4 خلية/ ملم3 دم) عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (257.5 خلية/ ملم3 دم) وشكل هذا فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة (أ< 0.01). وقد أظهر فيتامين A بجرعه الثلاث زيادة تدريجية في الجرّعتين الأوليتين حيث بلغ المعدل للجرعة الأولى (728.6 خلية/ ملم3 دم) وللجرعة الثانية (733.5 خلية/ ملم3دم) حيث اكتسبت الفروق الدلالة الإحصائية (أ< 0.01). أما في الجرعة الثالثة فبلغ العدد (533.9خلية/ ملم3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ< 0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي كانت (479.8 خلية/ ملم 3 دم).

وقد أظهر فيتامين C بجرعه الثلاث زيادة تدريجية حيث بلغ المعدل للجرعة الأولى (410.0 خلية/ملم 3 دم) وبالنسبة للجرعة الثانية (771.8 خلية/ ملم 3 دم) أما الجرعة الثالثة فبلغ (926.4 خلية/ ملم 3 دم) واكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ< 0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (257.5خلية/ ملم3). أما فيتامين E فقد أظهر زيادة تدريجية مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية إلا أن الفروق لم تكتسب الدرجة الإحصائية (أ>0.05).

وبيّنت النتائج الموضحة في الجدول (4-4) أن إعطاء الفيتامينات المتداخلة أظهر زيادة في معدل الخلايا وحيدة النوى فقد أظهر فيتامينا A+C بجرعة (1.4+180 ملغم/كغم) ارتفاعا في المعدل حيث بلغ (2096.6 خلية/ملم3 دم) وكذلك الحال لفيتامينا A+E بجرعة (1.4+10 ملغم/ كغم) حيث بلغ (1085.3 خلية/ ملم3 دم) وكذلك الحال لفيتامينا A+E بجرعة (180+10 ملغم/ كغم) ارتفاعا في المعدل حيث بلغ (707.9 خلية/ ملم3دم). أما الفيتامينات A+C+E بجرعة

(1.4+180+10 ملغم/ كغم) فقد أظهرت ارتفاعا في المعدل حيث بلغ (1087.0 ملغم/ كغم) كما أظهرت ارتفاعا في المعدل حيث بلغ (1087.0 خلية/ ملم3 دم) واكتسبت هذه الزيادرات فروقا معنوية

جدول (4-4): معدل عدد الخلايا الوحيدة النوى في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) ×310)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	107.4	6.6	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	257.5	20.1	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	479.8	29.6	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	368.6	24.8	
الخامسة	فيتامين A ((0.7	4	728.6	34.7	**
	(1.4)	4	733.5	26.4	**
	(2.1)	4	533.9	29.3	*
السادسة	فيتامين C ((60	4	410.0	46.8	**
		4	771.8	61.8	**

	(160) (180)	4	926.4	60.5	**
السابعة	فيتامين E (10) (20) (30)	4 4 4	500.0 490.0 466.4	32.7 37.3 50.5	■ ▲
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	2096.9	159.6	**
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C (10)	4	1085.3	37.5	**
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10)	4	707.9	38.7	**
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E (10)	4	1087.0	29.6	**

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

■رق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-2-1-4: الخلايا الحمضة

توضح النتائج المدونة في الجدول (4-5) أن معدل الخلايا الحمضة سجل ارتفاعا ملحوظاً عند المعاملة بعقار Etoposide حيث بلغ (102.5 خلية/ ملم 3 دم) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (46.6 خلية/ ملم3دم) وشكلت هذه الزيادة فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.01). وعند إعطاء فيتامين A بجرعه الثلاث ارتفع معدل عدد هذه الخلايا حيث بلغت الجرعة الأولى (40.9 خلية/ ملم3 دم) والجرعة الثانية (44.8 خلية/ ملم 3دم) والجرعة الثالثة (58.5 خلية/ ملم3دم) اكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى الدلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي بلغت (30.6 خلية/ ملم3 دم).

وعند إعطاء فيتامين C بجرعه الثلاث كانت قيم معدل تعداد هذه الخلايا مقاربا لذلك الملاحظ في حيوانات السيطرة السالبة الأولى. أما فيتامين E، فإن جرّعته الثالثة (30 ملغم/ كغم) كان مؤثرا في رفع قيمة معدل الخلايا الحمضة إلى (35.1 خلية/ ملم3 دم) بحيث اكتسبت هذه الزيادة فرقا معنويا (أ<0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة الثانية. وعند إجراء التداخل ما بين هذه الفيتامينات فأن فيتامينا A+E كانا هما المؤثرين في رفع قيمة معدل عدد الخلايا إلى (46.9 خلية/ ملم3 دم) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة (38.7 خلية/ ملم 3 دم) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الإحصائية (أ<0.05).

جدول (4-5): معدل عدد الخلايا الوحيدة النوى في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (خلية/ ملم 3 دم) ×310)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	102.5	3.5	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	46.6	1.7	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	30.6	0.8	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	38.7	1.3	
الخامسة	فيتامين A ((0.7) (1.4)	4 4 4	40.9 44.8 58.5	0.6 1.8 8.9	** ** **

	(2.1)				
السادسة	فيتامين C ((60 (160) (180)	4 4 4	49.1 47.6 46.9	1.9 1.2 1.7	▲ ■
السابعة	فيتامين E ((10 (20) (30)	4 4 4	31.4 32.7 35.1	0.8 1.7 1.3	■
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	41.9	2.3	■
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C ((10	4	46.9	1.2	* ■
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	39.6	0.6	
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E ((10	4	40.6	0.8	■

*الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-3: معامل الإنقسام

4-1-3-1: خلايا نقي العظم

يبين الجدول (6-4) بأن المعاملة بعقار Etoposide خفضت معامل انقسام نقي العظم إلى (85.2%) بالمقارنة مع حيوانات السيطرة السالبة الأولى (13.5%) بحيث كان الفرق معنويا (أ<0.05). وعند تجريع الحيوانات الفيتامينات الثلاثة بصورة مفردة أو متداخلة، لم تكن لها تاثيرات واضحة في معامل الإنقسام ما عدا الفيتامين E في الجرعة الثالثة (30 ملغم/ كغم)، حيث أن مثل هذه الجرعة رفعت قيمة معامل الإنقسام إلى (18.2%) بالمقارنة مع السيطرة السالبة الثانية (14.9%) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.05).

جدول 6-4: معامل انقسام خلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	8.2	0.9	*
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	13.5	3.3	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	14.9	0.7	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	14.2	0.3	
الخامسة	فيتامين A (0.7) (1.4) (2.1)	4 4 4	15.6 15.1 14.5	0.4 0.2 0.2	▲ ■

السادسة	فيتامين C ((60) (160) (180)	4 4 4	14.9 14.1 13.6	2.4 2.3 1.9	▲ ■ ■
السابعة	فيتامين E ((10) (20) (30)	4 4 4	14.6 16.5 18.2	0.6 0.9 2.1	▲ ٭
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	14.5	1.3	▲
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C ((10)	4	14.8	1.8	▲
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10)	4	14.3	1.3	■
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E ((10)	4	14.9	2.1	■

٭الاحتمالية <0.05 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-3-2: خلايا التوثة

لقد تأثر معامل انقسام خلايا التوثة بوضوح عند المعاملة بعقّار Etoposide، بحيث انخفضت قيمته إلى (1.4%) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى (7.1%) بحيث اكتسبت الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.01) وكما موضح في الجدول (7-4). أما فيتامين A، فقد أظهرت الجرّعتان (1.4 و 2.1 ملغم/ كغم) قدرة في رفع معامل الإنقسام إلى (6.1 و 7.6 على التوالي) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية (4.9%). وكذلك الحال بالنسبة للفيتامين E وفي الجرعة (30 ملغم/ كغم)

حيث ارتفعت معامل الإنقسام إلى (8.1%). تعد اكتسبت هذه الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.05). أما بقية الجرع أو التداخلات فلم تكن مؤثرة في معامل انقسام خلايا التوثة.

جدول4-7: معامل انقسام خلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	1.4	0.4	* *
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	7.1	1.9	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	4.9	0.2	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	6.4	1.2+	
الخامسة	فيتامين A ((0.7 (1.4) (2.1)	4 4 4	5.0 6.1 7.6	0.4 0.5 1.2	▲ * *
السادسة	فيتامين C ((60 (160)	4 4 4	5.9 6.5 7.4	0.2 1.3 1.9	▲ ■

	(180)				
السابعة	فيتامين E 10)) (20) (30)	4 4 4	5.1 6.3 8.1	1.2 1.3 1.9	▲ *
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C 4(180)	4	9.2	2.1	▲
التاسعة	فيتامينا A C + (1.4) 10))	4	6.9	1.2	▲
العاشرة	فيتامينا C (180) +E(10)	4	7.7	1.8	■
الحادية عشرة	فيتامينات A C+ (1.4) E+ (180) 10))	4	8.3	1.4	▲

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-3-3: خلايا الطحال

أظهرت النتائج المدونة في الجدول (4-8) انخفاضا في معامل الإنقسام لخلايا الطحال عند المعاملة بعقار Etoposide حيث بلغ المعدل (7.6%) عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (12.3%) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما تجريع الحيوانات بالفيتامينات بصورة مفردة أو متداخلة ولجميع الجرع فلم يكن مؤثرا في قيم معامل الانقسام بحيث لم تظهر فروق ذات دلالة احصائية (أ>0.05).

جدول 8-4: معامل انقسام خلايا الطحال في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	7.6	0.9	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	12.3	1.2	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	12.4	1.3	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	13.3	1.2	
الخامسة	فيتامين A (0.7) (1.4) (2.1)	4 4 4	12.0 12.9 13.7	1.4 1.2 1.9	▲ ■
السادسة	فيتامين C (60) (160) (180)	4 4 4	13.8 13.6 12.9	1.0 0.9 0.7	▲ ■
السابعة	فيتامين E (10) (20)	4 4	12.9 14.1	0.7 1.2	▲ ■

	(30)	4	14.8	1.3	
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	13.9	0.4	▲
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C (10)	4	13.7	1.2	■
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10)	4	13.6	0.7	▲
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E (10)	4	14.3	2.3	▲

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-4: معامل البلعمة

4-1-4-1: بعد مرور 30 دقيقة

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-9) أن المعاملة بعقار Etoposide أدت إلى خفض معدل معامل البلعمة فقد بلغ (16.4%) بعد مرور 30 دقيقة مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (26.1%)، وشكل هذا الاختلاف فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة (أ>0.01). وعند إعطاء ثلاثة جرع من فيتامين A أدى ذلك إلى زيادة معدل معامل البلعمة حيث سجلت الجرعة الأولى (24.8%) وللجرعة الثانية (25.5%) وللجرعة الثالثة (24.6%)، والتي اكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ>0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي كانت (22.2%).

وعند إعطاء فيتامين C، فقد سجلت الجرع الثلاث زيادة في معدل معامل البلعمة حيث سجلت الجرعة الأولى (26.6%) وللجرعة الثانية (29.5%) وللجرعة الثالثة (1.13%)، إلا أن هذه الزيادة اكتسبت الدلالة الاحصائية في الجرعة الثانية (أ>0.05) والجرعة الثالثة (أ>0.01)

مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى. أما فيتامين E وبجرعه الثلاث فلم يكن مؤثراً في معدل معامل البلعمة بعد مرور 30 دقيقة. وعند إجراء التداخل ما بين الفيتامينات، كان ذلك مؤثرا في رفع قيمة معدل معامل البلعمة وكان ذلك أكثر وضوحا في فيتامينا C+E (47.8%)، يليه في ذلك الفيتامينات A+C+E (42.5%) ثم فيتامينا A+C (47.8%) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة (24.4%). بحيث اكتسبت هذه الفروق الدلالة الإحصائية (أ<0.01).

جدول 9-4: معامل البلعمة بعد مرور (30) دقيقة في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (%)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	16.4	0.8	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	26.1	0.8	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	22.2	0.4	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	24.4	0.6	
الخامسة	فيتامين A ((0.7)	4	24.8	0.8	*
	(1.4)	4	25.5	1.0	*
	(2.1)	4	24.6	0.8	*
السادسة	فيتامين C ((60)	4	26.6	1.1	▲
		4	29.5	0.7	

	(160) (180)	4	31.3	0.9	* **
السابعة	فيتامين E (10) (20) (30)	4 4 4	22.9 22.8 22.5	0.8 0.7 0.7	▲ ■ ▲
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	33.3	1.2	**
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C (10)	4	36.8	1.7	**
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	47.8	1.3	**
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E (10)	4	42.5	1.0	**

* الاحتمالية< 0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-4-2: بعد مرور 60 دقيقة

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-10) أن المعاملة بعقار Etoposide أدت إلى خفض معدل معامل البلعمة فقد بلغ (29.9%) بعد مرور 60 دقيقة في ذكور الفئران البيضاء عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (58.0%) وشكل هذا الاختلاف فرق معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.01). وعند إعطاء ثلاث جرع من فيتامين A أدى ذلك إلى زيادة معدل معامل البلعمة حيث سجلت الجرعة الأولى (53.0%) وللجرعة الثانية (76.8%) وللجرعة الثالثة (74.3%) وقد اكتسبت هذه الزيادة في الجرّعتين الثانية والثالثة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ<0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية والتي كانت (52.7%). وكذلك عند إعطاء ثلاث جرع من فيتامين C ازداد معدل معامل البلعمة حيث سجلت الجرعة الأولى (76.4%) وللجرعة الثانية

(79.3%) وللجرعة الثالثة (85.5%) وقد اكتسبت هذه الزيادة فروقا معنوية عند مستوى دلالة (أ>0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى (58%). وهذا ما لوحظ عند إعطاء ثلاث جرع من فيتامين E حيث ازداد معدل معامل البلعمة لقد سجلت الجرعة الأولى (69%) والجرعة الثانية (66.8%) والجرعة الثالثة (64.7%) اكتسبت هذه الزيادة فروقاً معنوية عند مستوى دلالة (أ>0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية (52.7%). أما الفيتامينات المتداخلة فقد أظهرت كفاءة عالية في زيادة معدل البلعمة بعد مرور 60 دقيقة، وكانت على التوالي فيتامينا C+E (91%) وفيتامينا A+C (86%) وفيتامينات A+C+E (85.5%) وفيتامينا A+E (82.5%) بحيث اكتسبت الفروق الدلالة الإحصائية (أ>0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة والتي كانت (55.4%).

جدول 10-4: معامل البلعمة بعد مرور (60) دقيقة في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	عدد الخلايا (%)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	29.9	0.9	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	58.0	1.2	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	52.7	0.8	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	55.4	1.4	
الخامسة	فيتامين A ((0.7) (1.4)	4 4	53.0 76.8	0.9 1.3	▲ **

	(2.1)	4	74.3	0.8	**
السادسة	فيتامين C 60)) (160) (180)	4 4 4	76.4 79.3 85.5	1.7 0.5 1.5	**- ** **
السابعة	فيتامين E 10)) (20) (30)	4 4 4	69.0 66.8 64.7	1.8 1.4 0.9	** ** **
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)4	4	86.0	2.0	**
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C 10))	4	82.5	1.1	**
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	91.0	1.9	**
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E 10))	4	85.5	2.7	**

** الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-1-5: الفعالية النوعية للأنزيم ADA في مجانس خلايا التوثة

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4-11) أن المعاملة بعقار Etoposide أدى إلى خفض مستوى الفعالية النوعية لأنزيم ADA فسجل قيمة بلغت (66.42 وحدة/ ملغم بروتين) في ذكور

الفئران البيضاء عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (84.71 وحدة/ ملغم بروتين) بحيث اكتسب هذا الانخفاض الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما إعطاء الفيتامينات للحيوانات المختبرية بصورة مفردة أو متداخلة فلم يكن مؤثرا في قيم الفعالية النوعية للأنزيم ADA في مجانس خلايا التوثة وكما موضح في الجدول (11-4).

جدول 11-4: معدل الفعالية النوعية للأنزيم ADA لخلايا التوثة في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	وحدة/ ملغم بروتين		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	66.42	0.04	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	84.71	0.02	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	84.90	0.10	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	84.86	0.05	
الخامسة	فيتامين A (1.4))	4 4 4	85.30	0.04	▲
السادسة	فيتامين C (180)(	4 4 4	85.31	0.02	▲

السابعة	فيتامين E ((10	4 4 4	85.28	0.01	■
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C ((180	4	85.31	0.02	▲
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C ((10	4	85.29	0.04	▲
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	85.30	.0.03	▲
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E ((10	4	85.30	0.02	▲

■ ■الاحتمالية <0.01 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-2-1: التأثيرات الوراثية للفيتامينات A و C وE

درست التأثيرات الوراثية للفيتامينات A وCوE في ذكور الفئران البيضاء من خلال عدد من المعايير والتي شملت الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم وتشوهات رؤوس النطف.

4-2-1:الانحرافات الكروموسومية

شملت هذه الإنحرافات الكسر الكروماتيدي و الكرموسوم ثنائي القطعة المركزية والكروموسوم الحلقي.

بينت النتائج المدونة في الجدول (4-12) أن المعاملة بعقار Etoposide أظهر زيادة في نسبة الانحرافات الكروموسومية لكل خلية حيث بلغ المعدل (0.032 زيغ/ خلية) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (0.015% زيغ/ خلية) بحيث كان الارتفاع معنوياً (أ<0.01). وعند إعطاء فيتامين A بجرع ثلاث أظهرت ارتفاعاً طفيفاً مقارنة بالسيطرة السالبة فقد أظهرت الجرعة الأولى قيمة(0.014 زيغ/ خلية) ولم يشكل هذا الاختلاف فرقا معنويا (أ>0.05) مقارنة

بالسيطرة السالبة الثانية (0.013 زيغ/ خلية). بينما أظهرت الجرعتان الثانية والثالثة انخفاضاً في معدل الانحرافات الكروموسومية حيث بلغ (0.010 زيغ/ خلية) وشكل هذا فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة. أما فيتامين C فلم تؤثر الجرعة الأولى في معدل الانحرافات الكروموسومية، وكذلك الحال بالنسبة للجرعة الثانية، أما الجرعة الثالثة فقد خفضت معدل هذه الانحرافات إلى (0.012 زيغ/ خلية) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.05) عند المقارنة بالسيطرة السالبة الأولى (0.015 زيغ/ خلية). في حين كان تاثير فيتامين E متباينا ومعتمدا على الجرعة، فقد خفضت الجرعة الأولى (10 ملغم/ كغم) معدل الانحرافات إلى (0.011 زيغ/ خلية)، وعلى العكس من ذلك فقد ساهمت الجرعتان (20 و 30 ملغم/ كغم) في رفع قيم معدل هذه الانحرافات (0.016 و0.018 زيغ/ خلية على التوالي). لقد شكلت هذه الاختلافات فروقا ذات دلالة احصائية (أ<0.05).وأظهرت الفيتامينات المتداخلة كفاءة متناظرة في خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية إلى (0.011 زيغ/ خلية) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة (0.014 زيغ/ خلية) بحيث كان الانخفاض ذي دلالة احصائية عند مستوى دلالة (أ<0.05).

جدول 12-4: معدل الزيغ الكروموسومي لخلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بفيتامينات E,C,A وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	الانحرافات الكروموسومية (زيغ/ خلية)		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	0.032	0.006	* *
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	0.015	0.002	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	0.013	0.001	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (	4	0.014	0.001	

	سيطرة سالبة 3)				
الخامسة	فيتامين A 1.4))	4 4 4	0.014 0.010 0.010	0.001 0.001 0.001.	▲ * *
السادسة	فيتامين C 180)(	4 4 4	0.015 0.014 0.012	0.001 0.001 0.001	▲ *
السابعة	فيتامين E 10))	4 4 4	0.011 0.016 0.018	0.001 0.001 0.001	* * *
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C 180))	4	0.010	0.001	*
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C 10))	4	0.010	0.001	*
العاشرة	فيتامينا C (180) +E(10)	4	0.010	0.001	*
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E 10))	4	0.101	0.001	*

* الاحتمالية <0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية < 0.01 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-2-2: النوى الصغيرة

أظهرت النتائج المدونة في الجدول (4-13) ارتفاعا في نسبة النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم عند المعاملة بعقار Etoposide حيث بلغ المعدل (7.7%) لذكور الفئران البيضاء مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (0.9%). بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.01).

وعند إعطاء فيتامين A وبجرعه الثلاث انخفض معدل تكون النوى الصغيرة، إلا أن الفروقات لم تكن معنوية (أ>0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة الثانية. وعند إعطاء فيتامين C بجرعه الثلاث سجل انخفاضا في المعدل حيث بلغ بالنسبة للجرعة الأولى (0.8%) وللجرعة الثانية (0.55%) وللجرعة الثالثة (0.51%)، إلا أن هذا الانخفاض اكتسب الدلالة الاحصائية (أ<0.05) في الجرّعتين الثانية والثالثة عند المقارنة بالسيطرة الأولى.

أما فيتامين E، خفضت الجرعة الأولى (10 ملغم/ كغم) معدل تكون النوى الصغيرة إلى (0.45%)، إلا أن الفرق لم يكن معنويا (أ>0.05). في حين ساهمت الجرّعتان الثانية والثالثة في رفع معدل النسبة المئوية للنوى الصغيرة إلى (1.12% و 1.33% على التوالي) بحيث كان الفرق ذي دلالة احصائية (أ<0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة الثانية. أما تداخل الفيتامينات مع بعضها البعض فقد ساهم وبصورة عامة في خفض معدل تكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم، إلا أن مثل هذه الاختلافات لم تكتسب الدلالة الاحصائية (أ>0.05) إلا في تداخل فيتامينا C+E (0.42%) وفيتامينا A+C (0.44%).

جدول 4-13: النسبة المئوية لتكون النوى الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بفيتامينات A،C،E وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للنوى الصغيرة		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة موجبة) (0.17)	4	7.70	0.30	**
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	0.90	0.02	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة	4	0.70	0.20	

	2)				
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	0.80	0.20	
الخامسة	فيتامين A (1.4)	4 4 4	0.65 0.54 0.55	0.10 0.20 0.02	▲ ■
السادسة	فيتامين C (180)	4 4 4	0.850 0.55 0.51	0.10 0.10 0.10	▲ * *
السابعة	فيتامين E (10)	4 4 4	0.45 1.12 1.33	0.20 0.20 0.10	▲ * *
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180)	4	0.44	0.10	*
التاسعة	فيتامينا A (1.4) + C (10)	4	0.52	0.20	▲
العاشرة	فيتامينا C (180) +E(10)	4	0.42	0.11	*
الحادية عشرة	فيتامينات A (1.4) +C (180) +E (10)	4	0.61	0.20	■

* الاحتمالية <0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية < 0.01 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-2-3: تشوهات النطف رؤوس النطف

شملت تشوهات رؤوس النطف الرأس الضامر (الضيق) Narrow head، والرأس الدقيق Microhead، والرأس الضخم Giant head، والرأس مكسور الكلاب hook head Broken، ورأس المطرقة Hammer head.

أظهرت النتائج المدونة في الجدول (4-14) زيادة في معدل التشوهات لرؤوس النطف عند المعاملة بعقار Etoposide حيث بلغ المعدل (9.9%) في ذكور الفئران مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (1.4%) وشكل هذا الاختلاف فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.01). وعند إعطاء فيتامين A انخفض معدل النسبة المئوية لهذه التشوهات وكان هذا الانخفاض أكثر وضوحاً في الجرعة (1.4 ملغم/ كغم) حيث كان معدل التشوهات (0.7%)، وقد اكتسب هذا الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة الثانية (1.2%). وعند إعطاء فيتامين C، كانت الجرّعتان (120 و 180 ملغم/ كغم) هما الأفضل في خفض معدل هذه التشوهات حيث كانت (0.91% و 0.82%) على التوالي، بالمقارنة مع السيطرة السالبة الأولى (1.4%). اكتسب هذا الإختلاف فرقا معنويا وتحت مستوى دلالة (أ<0.05 و أ< 0.01 على التوالي). أما فيتامين E، فإن الجرعة (10 ملغم/ كغم) كانت الأفضل في خفض هذه التشوهات إلى (0.8%) وسجل هذا فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ<0.05)، في حين ساهمت الجرّعتان (20 و 30 ملغم/ كغم) في رفع قيمة معدل هذه التشوهات بحيث اكتسبت الزيادة في الجرعة الثالثة الدلالة الاحصائية (أ<0.05). وعند إجراء التداخل ما بين الفيتامينات، لوحظ بأن التداخل بين فيتامينا A+E هو الأفضل في خفض معدل التشوهات إلى (0.7%) وتلاه في ذلك تداخل الفيتامينات A+C+E (0.74%) مقارنة بالسيطرة السالبة الثالثة والتي كان معدل التشوهات فيها مساويا إلى (1.3%). لقد اكتسب هذان الفرقان الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية (أ<0.01).

جدول 4-14: معدل تشوهات رؤوس النطف في الفئران المجرعة بفيتامينات A،C،E وفئران السيطرة

المجاميع	مادة التجريع والجرعة (ملغم/ كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للتشوهات		الاحتمالية
			المعدل	الخطأ القياسي	
الأولى	أيتوبوسيد (سيطرة	4	9.90	0.30	**

	موجبة) (0.17)				
الثانية	ماء مقطر (سيطرة سالبة 1)	4	1.40	0.30	
الثالثة	زيت الذرة (سيطرة سالبة 2)	4	1.20	0.10	
الرابعة	ماء مقطر + زيت الذرة (سيطرة سالبة 3)	4	1.30	0.20	
الخامسة	فيتامين A (1.4))	4 4 4	1.40 0.70 0.90	0.30 0.04 0.10	▲ * ▲
السادسة	فيتامين C)180)(	4 4 4	1.40 0.91 0.82	0.20 0.40 0.20	▲ * * *
السابعة	فيتامين E (10))	4 4 4	0.80 1.21 0.50	0.03 0.10 0.10	* ▲ *
الثامنة	فيتامينا A(1.4) +C (180))	4	1.10	0.30	▲
التاسعة	فيتامينا A	4	0.70	0.06	* *

	C + (1.4) 10))				
العاشرة	فيتامينا C (180) (+E(10	4	1.50	0.30	▲
الحادية عشرة	فيتامينات A C+ (1.4) E+ (180) 10))	4	0.74	0.02	**

* الاحتمالية <0.05 عندالمقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

** الاحتمالية < 0.01 عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

الفرق غير معنوي عند المقارنة مع السيطرة السالبة المناظرة لها.

4-3: اختيار الجرعة الأمثل للفيتامينات A و C و E

لغرض اختيار الجرعة الأمثل لكل فيتامين فقد استعرضت النتائج المثبتة في الجداول (12-4-4-14)، وبالاعتماد على المعايير المدروسة في هذه الجداول (الإنحرافات الكروموسومية، النوى الصغيرة، تشوهات رؤوس النطف) وتبين بأن الجرعة المثلى لفيتامين A هي (1.4 ملغم/ كغم) وفيتامين C هي (180 ملغم/ كغم) وفيتامين E هي (10 ملغم/ كغم).

4-4: التداخل ما بين فيتامينات A و C و E والعقار ايتوبوسيد

أجري نوعان من التداخل ما بين الجرعة الأمثل للفيتامينات A و C وE (منفصلة أو مجتمعة) والعقار ايتوبوسيد. كان النوع الأول من التداخل إعطاء الفيتامينات قبل العقار (Pre-treatment)، في حين كان النوع الثاني من التداخل إعطاء الفيتامينات بعد العقار (post-treatment).

4-4-1: التاثيرات المناعية لتداخل الفيتامينات A و C و E

مع العقار ايتوبوسيد

4-4-1-1: العد الكلي لخلايا الدم البيضاء

تبين النتائج الموضحة في الجدول (4-15) بأن تجريع الحيوانات بفيتامين A (1.4 ملغم/ كغم) ساهم في رفع قيمة معدل عدد الخلايا سواء كان قبل المعاملة بالعقار (8.5×310 خلية/ ملم 3دم) أو بعد المعاملة بالعقار (8.4×310 خلية/ ملم3دم، على التوالي)، بحيث كان الفرق معنويا (أ>0.01) عند المقارنة مع السيطرة المناظرة لكل منها (5.1×310 خلية/ ملم3 دم و 6.3×310 خلية/ ملم 3 دم). وقد ماثلت في ذلك فيتامين E (10 ملغم/ كغم) ولكن مستوى الدلالة الاحصائية كان أقل من (أ>0.05). في حين نجد أن قيم معدل الخلايا للحيوانات المجرعة بفيتامين C متقاربة مع بعضها البعض سواء كانت المعاملة قبل أو بعد العقار بحيث كانت الفروق ليست ذات دلالة احصائية (أ<0.05) عند إجراء التداخل ما بين هذه الفيتامينات من جهة وعقار Etoposide من جهة أخرى، نجد أنها جميعا ساهمت في رفع معدل عدد خلايا الدم البيضاء إلا أن إعطاء هذه الفيتامينات بعد العقار كان الافضل حيث سجل فيتامينا A+C قيمة مقدارها (11×310 خلية/ ملم 3 دم) وفيتامينا A+E (11.9×310 خلية/ ملم 3 دم) وفيتامينا C+E (8.8×310 خلية/ ملم 3 دم) والفيتامنيات A+C+E (10.6×310 خلية/ ملم 3 دم). لقد اكتسبت بعض هذه الفروق الدلالة الاحصائية تحت مستوى (أ>0.05) والبعض الآخر تحت مستوى (أ>0.01).

جدول (4-15): تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية

A(1.4 ملغم/ كغم	±5.1 0.9	±8.5 0.5	أ>0.01	±6.3 3.1	±8.4 0.2	أ>0.01
C(180 ملغم/ كغم)	±8.3 1.2	±9.5 0.5	أ<0.05	±8.9 3.6	10.0 0.1±	أ<0.05
E(10 ملغم/ كغم)	±5.1 0.9	±7.5 0.3	أ>0.05	±6.3 3.1	±7.9 0.3	أ>0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	±6.4 0.3	10.1 0.5±	أ>0.01	±7.0 2.9	11.0 0.5±	أ>0.01
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	±6.4 0.3	±9.4 0.2	أ>0.05	±7.0 2.9	11.9 0.5±	أ>0.01
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	±6.4 0.3	±8.3 0.2	أ>0.05	±7.0 2.9	±8.8 0.2	أ>0.05
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	±6.4 0.3	±8.9 0.5	أ>0.05	±7.0 2.9	10.6 0.3±	أ>0.01

4-4-1-2: العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء

4-4-2-1: الخلايا اللمفاوية

توضح النتائج المدونة في الجدول (4-16) بأن تأثر الخلايا اللمفاوية بالفيتامينات قد اختلف باختلاف الفيتامين أو المعاملة (قبل أو بعد العقار). حيث نجد أن فيتامين A كان مؤثرا في رفع معدل هذه الخلايا (6.9×310 خلية/ ملم3) في المعاملة (قبل) فقط إلى بحيث كان الفرق معنويا (أ>0.05) بالمقارنة بالسيطرة (2×310 خلية/ ملم3 دم). ولقد ماثلت في هذا التأثير فتيامين E وفيتامينا A+C وفيتامينا C+E. أما فيتامين C فلم يكن مؤثرا في هذا الصدد بحيث لم تظهر فروق معنوية في قيم معدل الخلايا في المعاملتين (قبل أو بعد). وعند متابعة الجدول (4-16) نجد أن فيتامينا A+E قد انفردا في رفع قيمة معدل عدد الخلايا اللمفاوية في المعاملة (بعد) إلى (7.7×310 خلية/ ملم3دم) بالمقارنة بالسيطرة (4.9×310 خلية/ ملم3 دم). واكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ>0.01). أما اجتماع الفيتامينات مع بعضها البعض A+C+E فقد كان مؤثرا في رفع معدل عد الخلايا سواء كانت المعاملة (قبل أو بعد) ولكن مستوى الدلالة الاحصائية كان (أ>0.05).

جدول (4-(16 تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد **Etoposide** في عد الخلايا اللمفاوية للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310	

	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	2.0±0.4	6.9±0.2	0.01>أ	4.1±0.3	4.9±0.2	0.05>أ
C(180 ملغم/ كغم)	3.7±0.2	4.1±0.4	0.05<أ	5.2±0.7	6.0±0.9	0.05<أ
E(10 ملغم/ كغم)	2.0±0.1	6.2±0.8	0.01>أ	4.1±0.3	4.20±0.10	0.05>أ
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	3.9±0.4	6.4±1.2	0.05>أ	4.9±0.7	5.9±0.3	0.05>أ
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	3.9±0.4	6.2±0.6	0.05>أ	4.9±0.7	7.7±0.3	0.01>أ
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	3.9±0.4	5.5±0.2	0.05>أ	4.9±0.7	5.7±0.3	0.05>أ
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	3.9±0.4	5.4±0.3	0.05>أ	4.9±0.7	6.6±0.2	0.05>أ

4-4-1-2-2: الخلايا العدلة

لقد اختلف تأثر معدل عد الخلايا العدلة بالفيتامينات E,C,A لاسيما في المعاملة (قبل) وكما موضح في الجدول (4-17). ومن الملفت للنظر بأن تأثير هذه الفيتامينات في رفع معدل الخلايا كان أفضل عندما كانت منفردة وبالتحديد في المعاملة (قبل). حيث نجد أن فيتامين A قد ساهم في زيادة المعدل إلى (1.4×310 خلية/ ملم3) مقارنة بالسيطرة (1×310 خلية/ ملم3 دم) وفيتامين E(2.7×310 خلية/ ملم3 دم مقابل 1×310 خلية/ ملم 3 دم). لقد اكتسبت هذه الفروقات الدلالة الاحصائية (أ<0.01).

جدول (4-17) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في عد الخلايا العدلة للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310					
	قبل العقار			بعد العقار		

	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	1.00 ±.05	1.40 ± 0.01	0.01>أ	±2.2 0.2	2.80 ± 0.42	0.05<أ
C(180 ملغم/ كغم)	±2.1 0.3	±3.9 0.11	0.01>أ	±2.8 0.4	3.10 ± 0.09	0.05<أ
E(10 ملغم/ كغم)	±1.0 0.05	2.70 ± 0.23	0.01>أ	±2.2 0.2	2.64 ± 0.11	0.05<أ
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	±2.6 0.9	3.10 ±0.1	0.05<أ	±2.5 0.4	3.01 ± 0.41	0.05<أ
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	±2.6 0.9	2.10 ± 0.05	0.05<أ	±2.5 0.4	3.00 ± 0.09	0.05<أ
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	±2.6 0.9	2.10 ± 0.06	0.05<أ	±2.5 0.4	2.60 ± 0.04	0.05<أ
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	±2.6 0.9	2.20 ± 0.09	0.05<أ	±2.5 0.4	2.80 ±0.2	0.05<أ

3-2-1-4-4: الخلايا الوحيدة النوى

توضح النتائج المدونة في الجدول (4-18) بأن الفيتامينات E,C,A سواء كانت منفردة (E,C,A) أو متداخلة (E+C+A, E+C,+E+A, C+A) كانت مؤثرة في زيادة معدل الخلايا وحيدة النوى عند اعطائها للحيوانات المختبرية (قبل) العقار Etoposide أو (بعده)، بحيث اكتسبت جميع الفروق الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية (أ>0.01) عند المقارنة مع القيم المناظرة لها في السيطرة.

جدول (4-18) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد **Etoposide** في عد الخلايا الوحيدة النوى للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310	

	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	118.4 ±16.4	684.3 ± 31.2	أ<0.01	287.9 ±31.9	675.1 ± 20.2	أ<0.01
C(180 ملغم/ كغم)	285.3 ±18.3	768.6 ± 20.1	أ<0.01	413.7 ±43.6	743.0 ± 30.0	أ<0.01
E(10 ملغم/ كغم)	118.4 ±16.4	701± 20.3	أ<0.01	287.9 ±31.9	660.0 ± 32.4	أ<0.01
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	310.3 ±15.5	641.4 ± 32.6	أ<0.01	322.4 ±17.9	876.0 ± 39.8	أ<0.01
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	310.3 ±15.5	718.7 ± 71.2	أ<0.01	322.4 ±17.9	830.8 ± 61.5	أ<0.01
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	310.3 ±15.5	697.4 ± 36.2	أ<0.01	322.4 ±17.9	733.2 ± 74.0	أ<0.01
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	310.3 ±15.5	684.3 ± 31.2	أ<0.01	322.4 ±17.9	783.1 ± 64.1	أ<0.01

4-2-1-4-4: الخلايا الحمضة:

يوضح الجدول (4-19) بأن العقار Etoposide قد ساهم في رفع قيم معدل عدد الخلايا الحمضة سواء كان في المعاملة قبل العقار أو بعده، إلا أن القيم في المعاملة (قبل) أكبر (المدى: 885.5-94.3 خلية/ ملم3 دم) مما هي عليه في المعاملة (بعد) المدى: 74.9-82.4 خلية/ ملم3 دم). لقد ساهم تجريع الحيوانات بالفيتامينات (منفردة أو متداخلة) في خفض معدلات هذه الخلايا إلا أن نسبة الاخفاض اختلفت باختلاف الفيتامين أو التداخل (قبل أو بعد). حيث نجد أن فيتامين E كان الأفضل في خفض معدل عد الخلايا إلى (46.2 خلية/ ملم 3دم) مقارنة بالسيطرة (94.3 خلية/ ملم3 دم). في التداخل (قبل). في حين نجد أن فيتامين A كان الأفضل في خفض معدل عد الخلايا إلى (41.2 خلية/

ملم3دم) مقارنة بالسيطرة (78.3 خلية/ ملم3دم) في التداخل (بعد). اكتسب هذان الاختلافان الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية (أ<0.01).

جدول (4-19) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في عد الخلايا الحمضية للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	±94.3 13.6	59.5 ± 11.0	0.05>أ	78.3 9.6±	±412 10.6	0.01>أ
C(180 ملغم/ كغم)	±88.5 12.3	66.5 ± 11.1	0.05<أ	82.4 ± 10.1	48.5 ± 11.1	0.05>أ
E(10 ملغم/ كغم)	±94.3 13.6	46.2 ± 11.2	0.01>أ	78.3 9.6±	49.4 ± 10.4	0.05>أ
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	±91.7 12.4	57.0 ± 11.0	0.05>أ	74.9 8.5±	41.3 ± 10.5	0.05>أ
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	±91.7 12.4	68.2 ± 11.7	0.05>أ	74.9 8.5±	59.1 ± 12.0	0.05<أ
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	±91.7 12.4	69.9 ± 12.6	0.05<أ	74.9 8.5±	51.7 ± 11.1	0.05<أ
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	±91.7 12.4	50.9 ± 11.3	0.01>أ	74.9 8.5±	44.8 ± 10.5	0.05<أ

4-4-1-3: معامل الانقسام

4-4-1-3-1: خلايا نقي العظم

لقد ساهمت جميع الفيتامينات في رفع قيم معدلات معامل الانقسام لخلايا نقي العظم والتي تأثرت سلبيا نتيجة المعاملة بعقار Etoposide سواء كانت المعاملة (قبل أو بعد) وكما موضح في الجدول (20-4)، إلا أن إعطاء الفيتامينات بعد العقار أعطى نتائج أفضل، لاسيما لفيتامين A (15.3%) وفيتامين E (16.3%) وفيتامينا C+A (15%) فيتامينا E+A (15.7%) بحيث اكتسبت الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.01) عند المقارنة بالسيطرة المناظرة لها (12.0%). أما في التداخل (قبل) فإن أفضل النتائج كانت من نصيب فيتامينا C+A (14.5%) يليه في ذلك فيتامين A(13.7%) مقارنة مع السيطرة المناظرة لهاء، بحيث كان الفرق معنويا (أ<0.05).

جدول (20-4) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في معامل انقسام خلايا نقي العظم للفئران البيضاء

الجرعة	(المعدل ± الخطأ القياسي) خلية / ملم 3 دم ×310					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	9.8± 0.2	13.7 ±0.4	أ<0.05	11.5± 0.3	15.3 ±0.4	أ<0.01
C(180 ملغم/ كغم)	9.5± 0.3	12.7 ±0.3	أ<0.05	12.8± 0.4	14.2 ±0.3	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	9.8± 0.2	12.4 ±0.3	أ<0.01	11.5± 0.3	16.3 ±0.1	أ<0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	10.2± 0.4	14.5 ±0.3	أ<0.05	12.0± 0.4	15.0 ± 0.2+	أ<0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	10.2± 0.4	11.3 ±0.2	أ>0.05	12.0± 0.4	15.7 ±0.3	أ<0.05
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	10.2± 0.4	12.2 ±0.3	أ>0.05	12.0± 0.4	13.2 ±0.5	أ>0.05
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	10.2± 0.4	10.9 ±0.1	أ>0.01	12.0± 0.4	13.9 ±0.2	أ>0.05

4-4-1-3-2: خلايا التوثة

كان لتجريع الحيوانات المختبرية بالفيتامينات فعلا مؤثرا في رفع قيم معدلات معامل انقسام خلايا التوثة، خصوصا عند اعطائها بعد العقار (الجدول 4-21). حيث تراوح مدى ارتفاعها إلى(5%) لفيتامينا E+A إلى (6.9%) لفيتامين C وكذلك فيتامينا E+C بالمقارنة مع المدى (2.1-2.6%) في السيطرة، بحيث اكتسبت جميع الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما في المعاملة (قبل) فنجد أن فيتامين C كان الأفضل في رفع معامل الانقسام إلى (5.6%) مقارنة بالسيطرة (3.6%)،يليه في ذلك فيتامينا E+C (4.3%) مقارنة بالسيطرة (2.4%). اكتسب كلا الفرقين الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية (أ<0.05).

جدول (4-21) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في معامل انقسام خلايا التوثة للفئران البيضاء

الجرعة	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة (المعدل ±الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	2.8±0.1	3.3±0.1	أ<0.05	2.1±0.1	5.5±0.2	أ>0.01
C(180 ملغم/ كغم)	3.6±0.2	5.6±0.4	أ>0.05	2.6±0.3	6.9±0.7	أ>0.01
E(10 ملغم/ كغم)	2.8±0.1	3.4±0.1	أ<0.01	2.1±0.1	5.8±0.5	أ>0.01
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	2.4±0.1	3.3±0.1	أ<0.05	2.3±0.2	6.2±0.7	أ>0.01
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	2.4±0.1	3.2±0.1	أ<0.05	2.3±0.2	5.0±0.2	أ>0.01
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	2.4±0.1	4.3±0.2	أ>0.05	2.3±0.2	6.9±0.9	أ>0.01
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	2.4±0.1	3.9±0.2	أ>0.01	2.3±0.2	5.2±0.5	أ>0.01

4-4-1-3-3: خلايا الطحال

لقد اختلفت خلايا الطحال عن خلايا نقي العظم أو التوثة في تأثر معامل انقسامها بالفيتامينات المجرعة للحيوانات (الجدول 4-22). حيث بالرغم من ارتفاع قيم معدلات معامل الانقسام لكن الفروق لم

تكتسب الدلالة الاحصائية (أ>0.05) بالمقارنة مع السيطرة المناظرة. لكن نجد أن الفيتامينات E+C+A هي الأفضل في رفع معامل الانقسام إلى (13.7%) بالمقارنة مع السيطرة (8.8%) في التداخل (قبل)، بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما في التداخل (بعد)، فإن فيتامينا E+A و E+C كانا الأفضل في رفع معامل الانقسام إلى (13.2% و 13.1 على التوالي) بالمقارنة مع السيطرة (10.7%)، بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ>0.05).

جدول (4-22) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في معامل انقسام خلايا الطحال للفئران البيضاء

الجرعة	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة (المعدل ± الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	9.9± 0.6	10.3 ±0.4	أ>0.05	10.4± 0.6	11.2 ±0.6	أ>0.05
C(180 ملغم/ كغم)	8.5± 0.5	10.5 ±0.4	أ<0.05	12.2± 0.8	13.5 ±0.9	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	9.9± 0.6	10.2 ±0.3	أ>0.01	10.0± 0.6	10.6 ±0.7	أ>0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	8.8± 0.2	10.7 ±0.3	أ>0.05	10.7± 0.5	12.3 ±0.7	أ>0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	8.8± 0.2	11.6 ±0.6	أ<0.05	0.7± 0.5	13.2 ±0.8	أ<0.05
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	8.8± 0.2	12.9 ±0.4	أ<0.05	0.7± 0.5	13.1 ±0.9	أ<0.05
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	8.8± 0.2	13.7 ±0.5	أ<0.01	0.7± 0.5	12.9 ±0.8	أ<0.05

4-4-1-4: معامل البلعمة

4-4-1-4-1: بعد مرور 30 دقيقة

لقد جاءت معظم نتائج معامل البلعمة بعد مرور 30 دقيقة في الحيوانات المجرعة بالفيتامينات غير مختلفة نوعيا (أ>0.05) عن حيوانات السيطرة، إلا في موقعين لكل من التداخلين (قبل وبعد). ففي التداخل (قبل)، ساهم فيتامين E في رفع معامل البلعمة إلى (25.6%) بالمقارنة بالسيطرة

(19.9%)، فيتامينا E+A إلى (22.1%). أما التداخل (بعد)، فقد ساهم فيتامينا E+A في رفع معامل البلعمة إلى (28.8%) وفيتامينات E+C+A إلى (29.7%) بالمقارنة بالسيطرة (24.5%). إن جميع الفروق الآنفة الذكر اكتسبت الدلالة الاحصائية (أ<0.05) (جدول 23-4).

جدول (4-23) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في البلعمة بعد مرور 30 دقيقة للفئران البيضاء

الجرعة	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة (المعدل ± الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	19.9± 1.2	22.8 ±1.1	أ>0.05	21.4± 1.7	23.2 ±0.4	أ>0.05
C(180 ملغم/ كغم)	21.2± 1.3	24.0 ±1.5	أ>0.05	22.3± 1.6	23.6 ±0.3	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	19.9± 1.2	25.6 ±0.8	أ<0.01	21.4± 1.7	22.8 ±0.4	أ>0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	22.1± 2.7	25.1 ±1.8	أ>0.05	24.5± 1.9	26.2 ±0.6	أ>0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	22.1± 2.7	26.8 ±0.7	أ<0.05	24.5± 1.9	28.8 ±0.9	أ<0.05
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	22.1± 2.7	26.0 ±1.3	أ>0.05	24.5± 1.9	27.4 ±0.3	أ<0.05
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	22.1± 2.7	24.0 ±1.4	أ>0.01	24.5± 1.9	29.7 ±0.5	أ<0.05

2-4-1-4-4: بعد مرور 60 دقيقة

يوضح الجدول (4-24) بأن الفيتامينات المجرعة للحيوانات المختبرية قد ساهمت إيجابياً في رفع قيم معدلات معامل البلعمة والتي تأثرت سلبياً نتيجة المعاملة بعقار Etoposide، سواء كان التداخل (قبل) أو (بعد) بحيث اكتسبت الفروق الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية (أ<0.01) للتدخل (قبل) و (أ<0.05) للتدخل (بعد). واستثناء من ذلك فيتامينا E+A و E+C واللذان أيضا رفعا قيم معامل الانقسام في التداخلين (قبل وبعد) ولكن لم تكتسب الفروق الدلالة الاحصائية (أ>0.05).

جدول (4-24) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في البلعمة بعد مرور 60 دقيقة للفئران البيضاء

الجرعة	النسبة المئوية للخلايا المتبلعمة (المعدل ±الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	33.7 ±1.5	43.0 ±1.3	أ<0.01	60.9 ±2.8	67.8 ±0.9	أ<0.05
C(180 ملغم/ كغم)	30.2 ±1.2	41.7 ±0.5	أ<0.01	51.4 ±2.4	58.0 ±2.0	أ<0.05
E(10 ملغم/ كغم)	33.7 ±1.5	41.3 ±0.8	أ<0.01	60.9 ±2.8	68.7 ±0.4	أ<0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	38.6 ±2.1	46.3 ±0.3	أ<0.01	57.7 ±2.3	63.4 ±0.6	أ<0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	38.6 ±2.1	41.6 ±0.3	أ>0.05	57.7 ±2.3	62.2 ±0.5	أ>0.05
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	38.6 ±2.1	41.5 ±0.5	أ>0.05	57.7 ±2.3	59.3 ±0.6	أ>0.05
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	38.6 ±2.1	49.0 ±1.4	أ<0.01	57.7 ±2.3	64.8 ±0.6	أ<0.05

4-4-2: التأثيرات الوراثية لتداخل الفيتامينات A و C و E مع العقار ايتوبوسيد

درست التاثيرات الوراثية للفيتامينات A و C و E في ذكور الفئران البيضاء من خلال عدد من المعايير والتي شملت الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم وتشوهات رؤوس النطف.

4-4-2-1: الانحرافات الكروموسومية

يوضح الجدول (4-25) بأن اعطاء الفيتامينات قبل العقار قد ساهمت ايجابيا في خفض معدل الانحرافات الكروموسومية في خلايا نقي العظم والمستحثة بالعقار Etoposide، إلا أن فيتامينا E+C كانا الافضل في خفض معدل الانحرافات إلى (0.019 زيغ/ خلية) بالمقارنة مع (0.030 زيغ/ خلية)، بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية تحت مستوى احتمالية دلالة (أ<0.01).

أما بقية الفيتامينات في التداخل (قبل) فإن الانخفاض كان معنويا تحت مستوى احتمالية (أ<0.05). أما عند اعطاء الفيتامينات بعد العقار، فقد انفرد فيتامينا E+A في خفض الانحرافات الكروموسومية إلى (0.017 زيغ/ خلية) بالمقارنة مع (0.022 زيغ/ خلية) في حيوانات السيطرة، بحيث اكتسب الفرق الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما بقية الفيتامينات في التداخل (بعد)، فالبرغم من أنها ساهمت في خفض الانحرافات الكروموسومية،إلا أن الفروق لم تكن معنوية (أ>0.05).

جدول (4-25) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في الزيغ الكروموسومي لخلايا نقي العظم للفئران البيضاء

الجرعة	زيغ كروموسومي/ خلية (المعدل ± الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	0.029 ± 0.003	0.021 ± 0.002	أ<0.05	0.022 ± 0.002	0.019 ± 0.002	أ>0.05
C(180 ملغم/ كغم)	0.031 ± 0.003	0.023 ± 0003	أ<0.05	0.019 ± 0.002	0.018 ± 0.002	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	0.029 ± 0.003	0.021 ± 0.002	أ<0.05	0.022 ± 0.002	0.019 ± 0.002	أ>0.05
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	0.030 ± 0.002	0.024 ± 0.003	أ<0.05	0.022 ± 0.002	0.021 ± 0.004	أ>0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	0.030 ± 0.002	0.023 ± 0.003	أ<0.05	0.022 ± 0.002	0.017 ± 0.001	أ<0.05
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	0.030 ± 0.002	0.019 ± 0.002	أ<0.05	0.022 ± 0.002	.020 ± 0.001	أ>0.05
C+E+A(180+10+1.4	0.030	0.021	أ<0.05	0.022	0.020	أ>0.05

ملغم/ كغم)	± 0.002	± 0.002		± 0.002	± 0.002	

4-4-2-2: النوى الصغيرة

يوضح الجدول (4-26) بأن إعطاء الفيتامينات قبل العقار Etoposide سجل نتائج افضل مما هو عليه عند اعطائها بعد العقار في خفض معدلات النسب المئوية لتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم والمستحثة بالعقار Etoposide. وفي هذا الصدد يأتي فيتامين E في المقدمة، حيث خفض النسبة إلى (1%) بالمقارنة مع (5.3%) في السيطرة، يليه في ذلك فيتامينا C+A (0.5%) وفيتامينا E+A (0.6%) بالمقارنة مع السيطرة المناظرة لهما (3.6%). لقد اكتسبت هذه الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.01). أما في التداخل (بعد)، فقد تماثل فعل فيتامين E وفيتامينا E+A مع التداخل (قبل) (1.42% و 1.22% على التوالي)، ولكن يضاف هنا فيتامينا E+C اللذان حققا أفضل النتائج في خفض معدل تكون النوى الصغيرة إلى (0.73%) بالمقارنة مع السيطرة (3.61%)، بحيث اكتسبت جميع هذه الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.01).

جدول (4-26) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في الزيغ الكروموسومي لخلايا نقي العظم للفئران البيضاء

الجرعة	زيغ كروموسومي/ خلية (المعدل± الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	±5.30 0.31	1.83 ± 0.10	أ<0.01	3.80 ± 0.22	2.70 ± 0.30	أ>0.05
C(180 ملغم/ كغم)	±5.50 0.40	1.80 ± 0.20	أ<0.01	4.20 ± 0.33	3.42 ± 0.35	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	±5.30 0.31	1.00 ± 0.10	أ<0.01	3.80 ± 0.22	1.42 ± 0.22	أ<0.01
A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	±3.60 0.20	0.50 ± 0.02	أ<0.01	3.61 ± 0.20	2.73 ± 0.31	أ>0.05
A+E(1.4+10 ملغم/	±3.60	0.60	أ<0.01	3.61	1.22	أ<0.01

كغم)	0.20	± 0.10		± 0.20	± 0.14	
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	3.60± 0.20	1.34 ± 0.24	أ<0.05	3.61 ± 0.20	0.73 ± 0.03	أ<0.01
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	3.60+0.20	2.61 ± 0.31	أ>0.05	3.61 ± 0.20	2.90 ± 0.30	أ>0.05

4-4-2-3: تشوهات رؤوس النطف

شملت تشوهات رؤوس النطف الرأس الضامر (الضيق) والرأس الدقيق والرأس الضخم والرأس مكسور الكلاب ورأس المطرقة.

يتضح من الجدول (4-27) بأن اعطاء الفيتامينات (مفردة أو متداخلة) قد ساهم ايجابيا في خفض تشوهات رؤوس النطف المستحثة بالعقار Etoposide، لا سيما في التداخل (قبل)، حيث جاءت جميع الفروق ذات دلالة احصائية تحت مستوى دلالة (أ<0.01) عند المقارنة مع السيطرة المناظرة لكل منهما، وأن أقل معدل لهذه التشوهات قد سجل فيتامينا C+A وفيتامينا E+A (0.6% لكل منهما) بالمقارنة مع السيطرة (7.1%). أما في المعاملة (بعد) فأن أفضل النتائج كانت من نصيب فيتامين E وفيتامينا E+A، حيث انخفضت النسبة المئوية للتشوهات إلى (1.9%) هذا بالمقارنة مع (5.2% و 5.4% ، على التوالي) في السيطرة، بحيث اكتسبت الفروق الدلالة الاحصائية (أ<0.01).

جدول (4-27) تأثير التداخل بين الفيتامينات (A+C+E) والعقار ايتوبوسيد Etoposide في تشوهات رؤوس النطف للفئران البيضاء

الجرعة	النسبة المئوية للتشوهات (المعدل ± الخطأ القياسي)					
	قبل العقار			بعد العقار		
	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية	السيطرة	المعاملة	الاحتمالية
A(1.4 ملغم/ كغم)	8.6± 0.9	4.8± 0.5	أ<0.01	5.2± 0.3	3.9± 0.1	أ>0.05
C(180 ملغم/ كغم)	7.9± 0.6	3.6± 0.3	أ<0.01	5.7± 0.2	4.9± 0.3	أ>0.05
E(10 ملغم/ كغم)	8.6± 0.9	1.7± 0.2	أ<0.01	5.2± 0.3	1.9± 0.2	أ<0.01

A+C (1.4+180 ملغم/ كغم)	7.1±0.4	0.6±0.1	أ<0.01	5.4±0.3	4.3±0.3	أ>0.05
A+E(1.4+10 ملغم/ كغم)	7.1±0.4	0.6±0.1	أ<0.01	5.4±0.3	1.9±0.2	أ<0.01
E+C(10+180 ملغم/ كغم)	7.1±0.4	0.7±0.1	أ<0.01	5.4±0.3	4.5±0.3	أ<0.01
C+E+A(180+10+1.4 ملغم/ كغم)	7.1±0.4	1.5±0.2	أ<0.01	5.4±0.3	3.9±0.1	أ>0.05

الفصل الخامس

5-1: المناقشة

Discussion

أوضحت النتائج المبينة في الفصل السابق بأن للفيتامينات A و C و E تأثيرات مختلفة في الجهازين المناعي والوراثي للفئران البيضاء، كما أن هذه التأثيرات قد اختلفت أيضاً باختلاف العامل المناعي أو الوراثي المدروس، فعلى صعيد العد الكلي لخلايا الدم البيضاء نجد أن هذه الفيتامينات قد ساهمت ايجابيا في زيادة معدل العد لهذه الخلايا سواء كانت منفردة أومتداخلة مع بعضها البعض بحيث كان الفعل التأزري (Synrgesim) لها واضحا، وقد شمل ذلك بصورة أساسية الخلايا اللمفاوية والعدلة ووحيدة النوى، إلا أن الخلايا الحمضة جاءت استثناء من ذلك ولم تتأثر بهذه الفيتامينات عدا فيتامين A الذي انفرد ايجابيا في التأثير في الخلايا الحضمة. إن الصورة العددية لهذه الخلايا سواء كانت كلية (العد الكلي لخلايا الدم اليض) أو فردية (العد التفريقي لخلايا الدم البيضاء) يمكن أن يعطي صورة عامة عن فعالية الجهاز المناعي باعتبار أن هذه الخلايا هي العناصر الأساسية في الاستجابة المناعية سواء كانت نوعية أو نوعية حيث قد تتأثر سلبا (انخفاض العد) أو ايجابا (ارتفاع العد) في حالات الاصابات الفايروسية والبكتيرية والطفيلية (Lydyard Grossi, 1998 a Ames et al., 1993; Filiberti et al., 1997; Giacosa et al., 1997)، في الدراسة الحالية ورغم ارتفاع معدل عد خلايا الدم البيضاء في الفئران المختبرية المجرعة بالفيتامينات، إلا أن هذا العد كان ضمن المدى الطبيعي لمعدل هذه الخلايا في الحيوانات المدروسة رغم اقترابه من الحدود العليا أكثر مما هو عليه للحدود الدنيا للعد، وفي هذا الصدد تجدر الإشارة إلى أن بعض الفيتامينات رفعت معدل عد خلايا الدم البيضاء إلى حدود أعلى من الطبيعة مثل فيتامين C وفي الجرّعتين 120 و 180 ملغم/ كغم حيث ارتفع معدل عد الخلايا إلى (× 14.9310 خلية/ ملم3 دم) وفيتامينات E+C+A (13.3×310 خلية/ ملم3 دم)، وهذا قد يؤطر أهمية دراسة الجرع العالية من هذه الفيتامينات ومدى تأثيرها في الجهاز المناعي، مع علمنا بأن عدد خلايا الدم البيضاء في الدم المحيطي ربما يعبر عن الصورة العامة لفعالية الجهاز المناعي. إن هذا الجهاز يعتمد بصورة أساسية على الاتصالات ما بين هذه الخلايا للوصول بوظيفته إلى حدودها القصوى وبالتالي فإن أي تداخل في نقل الإشارات الخلوية (inter-cellular signaling Intera-and) يكون عاملا مؤثرا في أداء الوظيفة المناعية (Hughes 2000,)، وهذا قد يفسر تاثير الفيتامينات A و C و E في عد خلايا الدم البيضاء أو في فعاليات مناعية أخرى مثل البلعمة ومعامل انقسام خلايا الأعضاء اللمفاوية الأولية والثانوية، خصوصا عند اجراء التداخل ما بين هذه الفيتامينات والعقار المثبط للجهاز المناعي Etoposide بحيث أوضحت النتائج أثراً إيجابياً فاعلا في كبح الفعل المثبط لهذا العقار. وهذا ربما يفسر في ضوء كون هذه الفيتامينات هي من مضادات الأكسدة (Anti-oxidants) (Rohan et al., 1993; deFlora Ramel, 1988) وأن المؤكسدات (Oxidants) من العوامل المؤثرة في فعالية الجهاز المناعي وباتجاه تثبيط وظائفه (Watson et al., 2000)، ولكن كيف تؤدي هذه الفيتامينات دورها في ذلك؟

تشير الدراسات بأن فيتامين C يؤثر في معظم جوانب وظائف الجهاز المناعي، حيث وجد بأنه يوجد بتراكيز عالية في خلايا الدم البيضاء وأن انخفاضه يؤثر في وظيفة هذه الخلايا (Lee et al., 1999). حيث اقترح بأن هذا الفيتامين يؤمن الحماية لدهون البلازما (Plasma lipids) ودهون الأغشية الخلوية (Membrane lipids) من فعل المؤكسدات من خلال ثلاث آليات: التداخل في بناء نيوكلوتيدات الخلية وبناء البروستوكلاندينات (Prostglandins) ويعزز إنتاج الحركيات الخلوية (Cytokines) (Hughes, 2001). إن الآليات الآنفة الذكر تدخل ضمن المحصلة العامة لفعالية الجهاز المناعي وإذا كان فيتامين C مشمولا فيها فهذا يفسر النتائج الإيجابية التي أشارت إليها الدراسة الحالية، لكن يبقى مجال البحث مفتوحا لدراسة الآلية أو الآليات التي من خلالها يعمل فيتامين C على تعزيز فعالية الجهاز المناعي.

أما فيتامين E، فإن الدراسات في الإنسان والحيوانات المختبرية تؤكد أهميته في المحافظة على وظيفة الجهاز المناعي، وهو الآخر من مضادات الأكسدة (Lyons et al 2001.,). حيث وجد بأنه من مضادات الأكسدة الذائبة في دهون غشاء الخلية وبالتالي فإنه يساهم في تكامل هذا الغشاء (Intergrity)، والذي قد يتأثر بالمؤكسدات (Bramely et al.,2000). لقد تم التوصل لهذا الاستنتاج من خلال دراسات حالات نقص فيتامين E، حيث وجد بأنها تتصاحب مع انخفاض في إنتاج الأضداد من الخلايا اللمفاوية البائية (B-lymphocytes) وانخفاض أيضا في معامل انقسام الخلايا اللمفاوية التائية (lymphocytes T-) (Moller Loft,2002). وعند استعراض المحصلة الثانية نجد ذلك واضحاً في ارتفاع معامل انقسام خلايا التوثة عند إعطاء الفيتامينات مفردة أو مجتمعة إلى الحيوانات المختبرية المجرعة بالعقار Etoposide بحيث كانت الفروق معنوية (أ<0.01) عند المقارنة مع السيطرة المناظرة لكل منهما. إن الخلايا المنقسمة في غدة التوثة هي خلايا لمفاوية تائية تمر بمرحلة التعليم Education داخل هذه الغدة. كما لوحظت نفس النتيجة في خلايا الطحال ولكن كانت بنفس المستوى لفيتامين E سواء كان تجريعه قبل العقار أو بعده حيث تمثل الأولى الموقع لتخصص الخلايا اللمفاوية التائية بينما يمثل الثاني الموقع الذي تحدث فيه المواجهة ما بين المستضدات الغير شخصية وخلايا الجهاز المناعي (الخلايا اللمفاوية التائية والبائية والخلايا المقدمة للمستضد (Lydyard Grossi, 1998b). وبالتالي فإن تأثر معامل انقسامها يؤثر في وظيفة الجهاز المناعي. وتأكيداً لذلك وجد علاقة عكسية ما بين مستوى فيتامين E في الدم والإصابة بالبكتريا في الأشخاص المسنين، وأن إعطاءهم جرع من فيتامين E ساهم في تحسين فعالية الجهاز المناعي في القضاء على هذه الإصابات (Meydani et al.,1997) أما آلية تأثير هذا الفيتامين في الجهاز المناعي، فقد اقترح بأن يعمل على تثبيط أحد عوامل الاستنساخ (Transcription factor) والمسمى NF-KB، حيث أنه يعد عاملاً مؤثرا في إنتاج الخلايا للـ Interlukin-1 (Asmis Jelk,2000).

أما فيتامين A، فقد لوحظ بأنه أيضاً يمتلك القابلية على التحفيز المناعي خصوصا عند الأخذ بنظر الاعتبار خلايا الدم البيضاء ومعامل انقسام خلايا التوثة ونقي العظم ومعامل البلعمة بعد مرور 60 دقيقة. (على حدود علم الباحث) ليست هناك دراسة مماثلة،إلا أن الدراسات في هذا المجال كانت على الأشخاص المسنين والتي أوضحت بأن فيتامين A، يعمل على تعزيز فعالية الجهاز المناعي ومن خلال تأثيره في الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة (CD4+Cell) ومستلمات (-Interlukin 2) على سطح الخلايا (Lupulescu, 1994) وكذلك الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer

cells(Kamei Lupulescu, 1994)، إضافة إلى ذلك فقد لوحظ علاقة ايجابية ما بين مستوى فيتامين A في مجرى الدم وعدد خلايا وحيدة النوى (Hughes, 1999). وهذا ما لوحظ في الدراسة الحالية، حيث ساهم فيتامين A وبجرعاته الثلاث في رفع قيم معدل عد خلايا وحيدة النوى مقارنة بالسيطرة السالبة حيث كانت الفروق معنوية. يعتقد بأن تأثير فيتامين A ناجم من تأثيره في البروستكلاندينات (Prostglandins) المنتجة من خلايا وحيدة النوى (Hughes, 2000).

وعند استعراض نتائج الدراسة الوراثية (الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة وتشوهات رؤوس النطف) نجد أن الفيتامينات A و C و E قد ساهمت ايجابيا في توفير الحماية للمادة الوراثية للفار المختبري من خلال خفض معدل الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في نقي العظم وخفض تشوه رؤوس النطف المستحثة بالعقار Etoposide، خصوصا عند تجريع هذه الفيتامينات للحيوانات المختبرية قبل اعطاء العقار. تكمن أهمية هذه النتيجة إذا أخذنا بنظر الاعتبار بأن معظم السرطانات في الإنسان مسبوقة بحصول طفرة وراثية على مستوى الكروموسوم أو مستوى د.ن. إيه (DNA) في الخلية والتي عادة ما تكون مستحثة بالملوثات البيئية التي يتعرض لها الإنسان خصوصا في العراق وعلى مدى العقدين الماضيين (Ad'hiah, et al., 2002b; Yaseen, 1990)، لذلك هل يمكن تحصين الإنسان بهذه الفيتامينات ضد الإصابة بالسرطان. لقد تناولت العديد من الدراسات هذا الموضوع وتكاد تتفق مع بعضها البعض في مقدمة واحدة هي نعم (Sram et al,

Ghaskadbi Vaidya 1989; Odeleye et al., 1992; Kandarkar Sawant,; 1996; Leo Liber, 1999; Sawant Kandarkar, 2000) ولكن كيف تعمل هذه الفيتامينات على حماية المادة الوراثية من المطفرات البيئية سواء كانت كيميائية أو فيزيائية؟

يمكن إجابة هذا السؤال في ضوء المحصلة المناعية السابق ذكرها والتي تمت الإشارة فيها إلى أن الفيتامينات A و C و E هي من مضادات الأكسدة. وعند العودة إلى فعالية الجهاز المناعي نجد أن خلايا الدم البيضاء لا سيما الخلايا البلعمية تسيطر على الإصابات الفايروسية والبكتيرية والطفيلية من خلال تحطيمها كيميائيا بعض المؤكسدات مثل NO و O2 و H2O2 (Filiberti et al., 1997; Ames et al., 1993)، إن هذه المؤكسدات تحمي الكائن الحي من الهلاك نتيجة الإصابة، إلا أنها يمكن أن تحدث ضرراً (Damage) للمادة الوراثية يتمثل بهيئة طفرة وراثية (Genetic Mutation)، ويمكن أن تساهم هذه الطفرة (أو الطفرات) في عملية تسرطن الخلية، إلا أن وجود مضادات الأكسدة (مثل الفيتامينات) يساهم في منع ذلك (Mure Rossman, 2001; Virtamo, 1999) إن المؤكسدات الآنفة الذكر يطلق عليها أيضاً الجذور الحرة Free radicals (Salganik,2001)، وأن هذه الجذور يمكن أن تتكون داخل الجسم بفعل المطفرات البيئية (Moller Loft, 2002)، والتي لها القابلية على إحداث الضرر في الـ د..ن. إيه (DNA) والرنا (RNA) في الخلايا، كما تعمل أيضاً على تثبيط بعض الأنزيمات من التفاعل مع الأحماض الامينية. وفي هذا الصدد افترضت آليات حياتية والتي تدعم بأن الفيتامينات A و C و E يمكن أن تقلل من الطفرة الوراثية وبالتالي يمكن أن تقلل تسرطن الخلايا. حيث لوحظ بأن فيتامين A يمنع الضرر في دنا الخلية المستحث بالجذور الحرة من خلال التداخل مع عملية أيض الطفرات الكيميائية (Everett et al., 1996)، إضافة إلى ذلك فإن فيتامين A

له تأثيرات مباشرة على نمو (Growth) وتمايز (Differentiation) الخلايا الظهارية (Epithelial cells)، وبالتالي فهو قد يعمل مضاد لمراحل التطفير الوراثي ((Antagonist Schorah, 1999)). أما في مجال التسرطن، فإن الفيتامين يعمل على تعزيز الترابط الخلوي (Gap-junction communication)، وإن مثل هذا التعزيز يقلل من التوسع الاستنالي (Clonal expansion) وبالتالي يمنع التسرطن (Palozza et al., 2003).

أما فيتامين E، فهذا يمنع تكون المسرطنات (Carcinogens) مثل nitrosamines Jacobs et al., 2002))،إضافة إلى قدرته في تعزيز المناعة الخلطية والخلوية وبالتالي يمكن أن يحطم الخلايا المتسرطنة (Devaraj Jialal, 1996). ويشاركه في الفعل فيتامين C والذي يقوم بكسح الجذور الحرة (Scavenge free radicals) (Carr Frei, 1999). إن نتائج الدراسة الحالية تدعم ما تقدم خصوصا إذا ما أخذنا بنظر الاعتبار الفعال التآزري لهذه الفيتامينات، فعلى سبيل المثال عند إجراء التداخل ما بين فيتامينا C+A أو E+C، انخفضت النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف المستحثة بالعقار Etoposide من 7.1% إلى 0.6% عند اعطاء هذه الفيتامينات للحيوان قبل المطفر وبالتالي فإن فيتامينات الدراسة الحالية يمكن أن تحمي المادة الوراثية من فعل المطفرات البيئية.

الاستنتاجات

Conclusions

1- لم تظهر الفيتامينات A و C و E (بصورة منفردة أو متداخلة مع بعضها) تأثيرات سلبية في الجهاز المناعي أو في المادة الوراثية للحيوان المختبري، وعلى العكس من ذلك فقد أفصحت المعايير المدروسة فعلاً واضحاً لهذه الفيتامينات في تعزيز فعالية الجهاز المناعي وتقليل معدل مستوى الطفرة التلقائية،وكان هذا الفعل معتمدا على الجرعة.

2- وجد بأن إعطاء الفيتامينات A و C و E (بصورة منفردة أو متداخلة) قبل العقار أظهر كفاءة تثبيطية واضحة لإزالة التأثيرات الجانبية للعقار، وكذلك كان الحال عند اعطائها بعد العقار. إلا أن فعلها قبل العقار كان الأفضل وبالتالي ومن الناحية الوراثية يمكن اعتبار هذه الفيتامينات مثبطات مباشرة (Desmutagens) بالدرجة الأولى ومثبطات حيوية (Biodesmutagens) بالدرجة الثانية.

التوصيات Recommendations

1- اجراء دراسات مماثلة للدراسة الحالية لبقية الفيتامينات.

2- اعطاء النساء الحوامل والأطفال الرضع والأطفال في سن المدرسة حصص يومية أو شهرية من الفيتامينات من خلال المؤسسات الصحية والمجتمعية وهذا يساهم في خلق جيل صحي سليم من الأمراض.

3- بيان أهمية الإكثار من تناول الفواكه والخضروات الطازجة في تقليل أثر المطفرات والأمراض الخطيرة المتواجدة في البيئة التي يتعرض لها الإنسان يومياً.

4- اعطاء جرع إضافية من الفتيامينات للأشخاص الذين يعانون من أمراض السرطان وخاضعين للعلاج الكيميائي والإشعاعي لتخفيف أثر المواد الكيميائية والمشعة على أجسامهم وصحتهم.

SUMMARY

The present study was designed to shed some light on the immunological and genetic effects of the vitamins A,C, and E. The effects of these vitamins on the mutagenic and immuno-suppressive action of the durg etoposide were also in vestigated in vivo using albino mouse (Mus musculus). The immunological and genetic tests included total and differential counts of leucocytes, phagocytic index of peritoneal cells, mitotic index of bone marrow, thymic and splenic cells, chromosomal aberrations and micronucleus formation in bone marrow cells, sperm-head abnormality assay, and specific activity of .adenosine deaminase in thymic cell homogenate

Three doses of each vitamin were tested. They were 0.7, 1.4 and 2.1 mg/kg (vitamin A), 60, 120, and 180 mg/kg (vitamin C) and 10,20 and 30 mg/kg (vitamin E). Then, the optimal dose that showed maximum inhibition of spontaneous mutations (chromosomal aberrations, micronucleus formation and sperm-head abnormality) was selected. The optimal doses were (1.4, 180 and 180 and 10 mg/kg) for vitamins A,C and E, respectively. After that, two types of interaction (Before and After drug) between the optimal does of vitamins (alone or mixed) and the durg etoposide were investigated to assess the role of vitamins in inhibiting, modifying, or reducing the .effects of this drug

:The following results were obtained

Vitamins A, C and E (alone or mixed) did not show negative -1 effects of activity of immune system or on the genetic make- up of laboratory animals. In contrast, an obvious activity for these vitamins was observed regarding the activation of the immune system and reduction of the rate of spontaneous mutation. This effect was dose- .dependent as shown above

The previously shown positive effect was obvious when an-2 interaction was made between these vitamins and etoposide, The administration of vitamins A, C and E (alone or mixed) before the drug showed a clear inhibitory effect for the action of the durg. The

same effect was observed when vitamins were given after the drug. However, the action of vitamins was better before the drug, therefore, from the genetic point of view, these vitamins can be considered as direct desmutagens in the first place and as .biomutagens in the second place

المصادر العربية

1-الأسدي، اسعد عبد الواحد بدر (1988) التأثيرات الوراثية للمسرطن بنزانثر اسين في الفئران البيضاء واختبار تأثير بعض الفيتامينات، كلية التربية، جامعة صلاح الدين، اربيل، العراق، اطروحة ماجستير.

2-الأسدي، زينب ثامر شويت (2002) تأثير هرمون الاوكسي توسين في مستوى حامض السيالك وفعالية الجهاز المناعي في الفئران البيضاء، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، اطروحة دكتوراه.

3-التميمي، عبد الحليم سالم (2004) بعض التأثيرات الفسلجية والمناعية لعقار بنتوستام (Sodium Stibogluconate) Pentostam في ذكور الجرذ البيضاء (Rattus norvegicus) كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، اطروحة دكتوراه.

4-حسن، مفيد قائد احمد (2000) تثبيط الأثر السمي الوراثي لبعض الممرضات الكيميائية باستخدام مستخلصات نباتية، كلية العلوم، جامعة بابل،اطروحة دكتوراه.

5-الخياط، بشرى محمداين (1999) دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفر لبعض النباتات الطبية العراقية، كلية التربية/ ابن الهيثم،جامعة بغداد، اطروحة دكتوراه.

6-الربيعي، فرحه عبد علي شفي (2000) دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفر لبعض النباتات الطبية العراقية في الفئران البيضاء، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير.

7-عباس، طارش عبد الله (2001) بعض التأثيرات المناعية للمكورات المسبحية (المجموعة أ) المقتولة في الفئران البيضاء Mus muscullus، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير.

8-العبيدي، ندى مسلم علي (2002) بعض التأثيرات المناعية لجذور نبات السوس Glycyrrhiza glabra في الفئران البيضاء Mus musculus،كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير.

9-مسعودان، جمال تهامي (2002) بعض التأثيرات المناعية لنبات الشيح Artemisia alba-herba في الفار الابيض Mus musculus، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد، رسالة ماجستير.

10-النهاري، أشرف محمد (2003) تقييم الحالة المناعية والوراثية الخلوية لمرضى التدرن الرئوي، كلية التربية/ ابن الهيثم،جامعة بغداد، اطروحة دكتوراه.

Abdulla, M. Gruber, P. (2000) Role of diet modification in cancer prevention. Biofactors, 12:45-51.

Ad'hiah, A. H. ; Al-kashaly, S.S. Abbas, T.A.A. (2002a) Group A streptococcus(Streptococcus piygoenes) and the mitotic activity of lymphoid organs in albino mice. The Eight Scientific Conferenemes .of the Technical education Committce, pp. 302- 208

Ad'hiah, A. H.; Ghali, K.H. El-Hassani, M. (2001 a) An epidemiological approach to bladder cancer in Iraq from 1976 to .1988. Al-Mustansirya J.Sci. 11: 25-30

Ad'hiah, A. H.; Ghali, K.H. El-Hassani, M. (2002b) Breast cancer incidence among Iraqi females, areport of 23 years. Al- Mustansiriya .J.Sci., 13:31-31

Ad'hiah A. H.; Hassan, M. K. A. Kadhim, K.K. (2001b) The haemayological and cytogenetic effects of gamma radiation on white .Mouse (Mus musculus). Ibn Al-Haitham J. pure Sci., 14:45-56

Ad'hiah , A.H.; Sayhood, Y.D. Shubber, E.K. (2004) Inhibiting the haematologic and cytogenetic effects of tamoxifen by alchohlic .extract of garlic (Allium sativum). Nucleus. 47:10-16

Allen,J. W., Shuler, C.F.; Mendes, R. W. Latt, S.A (1977) A simplified technique for in vivo analysis of sister chromatid exchanges using 5- .bromo-deoxy uridine tablets. Cytogenet. Cell Genet., 18: 231-37

Ames, B.N; Shigenaga. M.K. Hagen, T.M. (1993) Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of aging. Proc. Nat. Acad. .Sci., 3:7915-7922

Asmis, R. Jelk, J. (2000) Vitamin E supplementation of human macrophages prevents neither foam cell formation nor increased susceptibility of foam cells to lysis by oxidized LDl., Vasc. Biol. .20:990-997

Azzi, A; Breyer, 1; Feher, M; Pastori, M.; Stocker, A; Zimmer,S. Zingg. J. M. (2000) Specific cellular responses to alpha- tocopherol. .J.Nut. 130: 1649-1652

Banerjee, S.K.; Young, H. W; Volmer, J.b. Blackburn, M.R. (2002) Gene expression profiling in inflammation and airways disesase associated with elevated adenosine. Am.J. Physiol. Lung Cell Mol. .Physio., 282:L 169-L 182

Barone, J.; Taioli, E.; Hebert, J.R. Wynder, E.L. (1992) Vitamin supplement use and risk for oral and esophageal cancer. Nutrition .and cancer, 18:31-41

Blackburn, M.R; Lee, C.G; Hays, W.J; Young Z.Z; Chunn, J.L; Kang, M. J. Banerjee, S. K. Elias, J.A. (2003) Adenosine mediates IL-13-induced inflammation and remodeling in the lung and interacts in an .IL-13 adenosine amplification pathway. J. Clin. Inverst. 112:332-344

Blot, W.J. (1997) Vitamin/mineral supplementation and cancer risks: international chemoprevention trials. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1: .216-296

,Bramley, p. M; Elmadfa

Bramley, p. M.; Elmadfa, 1; Kafatos, A; Kelly, F. j; Manios, Y.; Oxborough, H.E; Schuch, W; Sheehy,p.j.A. Wgner,K.H.(2000) .Vitamin E. J. Sci. Food Agric., 80:913-938

Bruninga. D. (2000) Vitamins C and E fight side effect of pelvic .radiation for cancer. Am.J. Gastroenterology, 86:1-5

Carr, A.C. Frei, B. (1999) Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in .humans. Am. J. Clin. Nutr. 69:1086-1107

Cole, A. S; Eastoe, J.E; Mcgivan,J; Hayes, M.L. Smillie, A.C. (1988) .Biochemistry and Oral Biology, 2 and edition, London, pp. 156-169

Czyzewska, A. Mazur, 1.1 (1995) Suppressing effect of WR-2721 on .micronuclei induced by cyclophosphamide in mice

.Tertogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, 15:109-114

De Flora, S. Ramel, C. (1988) Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis classification. Mut. Res., 202-285-.306

Devaraj, S; L.D. Jialal, 1. (1996) The effects of alpha-tocopherol supplementation on monocytes function. Am. J. Clin. Investigation, .Inc. 98:756-763

Dewick, P.M. (1999) Tumor inhibitors from plants.Scientific Am. .2:409-425

Everett,S.A; Dennis, M.F; patel, K.B.; Maddix, S; Kundu,S. C. Willson, R.L. (1996) Scavenging of nitrogen dioxide thiy 1 and sulfonyl free radicals by the nutritional antioxidant B-carotene. Am. .Soc. Biochm. Mol. Bio. Inc. 271:3988-3994

Filiberti, R. Giacosa Brignoli, O. (1997) Hight-risk subjects for vitamin .deficiency. European J. Cancer Prev. 6:37-42

Garcia, B.L; perez,C; Vilaboa, N.E; DeBlas; DeBlas, E. Aller,p. (1998) Camp increasing agents attenuate the generation of apoptosis by etoposide in promonocytic leukemia cells.J. Cell Sci., .111:637-644

Ghaskadbi, S. Vaidya, V.G. (1989) In vivo antimutagenic effects of ascorbic acid against mutagenicity of the common antiamebic drug .di iodohydroxy quinoline. Mut. Res., 222:219-222

Ghaskadbi, S. Vaidya. V.G. (1991) Studies on modulationof the effects of colchicin by L-cysteine using bone marrow of swiss mice. .Mut. Res., 260:181-185

Ghaskadbi, S; Rajmachikar,S; Agate,C. H. ; Kapadi. A. H. Vaidya. V. G. (1992) Modulation of cyclophosphamide mutagenicity by vitamin C in the in vivo rodent micronucleus assay. Teratogenesis, .carcinogenesis and mutagenesis, 12:11-17

Giacosa, A; Filiberti, R; Hill, M.J. Faivre, J. (1997) Vitamins and .cancer chemoprevention. Eur. J. cancer prev., 6:547-55554

Giusti, G. (1981) Adenosine deaminease. In: Bergmeyer, H.U. (Ed) Methods of Enzymatic Analyses (2nd). Ed Academic press, 2:1092-.1099

Haen, p.j. (1995) Principles of hematology. Edited by L. H. Young. .W.B. publishers, London

Heinonen, O.P. Albanes, D. (1994) The effects of viamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male .smokers.New Engl.J. Med. 330:1029-1035

Hill, M.J. (1997) Intestinal flora and endogenous vitamin. European .J. Cancer prevention, 6:543-545

Hosein, S. (1999) Managing your health. Health Canada, Under the .Canadian Strategy on HIV/ AIDS

.Internet:// www.jci.org/cgi/content

Hudson, L. Hay, F.C. (1980) Practical immunology. Blackwell. .Scientific Publications. U.K

Hughes, D.A. (1999) Effects of carteniods on human immune .function.Proc.Nutr. Soc., 58:713-718

Hughes, D.A. (2000) Dietary antioxidants and humand immune .fuction. British nutrition foundation Nutrition Bulletin, 25:35-41

Hughes, D.A. (2001) Dietary carotenoids and human immune .fuction. Nutrition, 1:823-827

Jacobs, E.j.; Connell, C.J; McCullough, M.L; Chao, A.; Jonas, C.R.; Rodriguez, C; Calle, E.E. Thun, M.J. (2002) Vitamin C, vitamin E and multivitamin supplement use and stomach cancer mortality in the cancer prevention study 11 cohort. Cancer Epidemiol. Biomarkers .Prev. 11: 35-41

Kamei, T.; Kohno,T; Ohwada, H; Takeuchi, Y.; Hayashi, Y. Fukuma, S. (1993) Experimental study of the therapeutic effects of folate, vitamin A and vitamin B-12 on squamous metaplasia of the bronchial .epithelium. Cancer, 71:2477-2483

Kandarkar, S.V. Sawant, S.S (1996) The effect of vitamin C on the hamster cheek pouch treated with the water soluble carcinogen 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO). Oral Oncol. Eur. J. Cancer., 32B:230-.237

Kandarkar, S.V.; Sawant, S.S. Read, P.C. (1997)Ultrastructural changes to the palatal mucosa of rats following the application of 4-nitroquinoline -1-oxide (4NQO) and vitamin C. Eur. J. Cancer, .34:247-252

Kline, K; Yu, W. Sanders, B.G. (2001) Vitamin E: mechanisms of .action as tumor cell growth inhibitors.J.Nut., 131:1615-1635

Kramer, R. J. (2003) Complete Blood Count, Internet./ .www.jci.org/cgi/content

Lee, C.Y.; Lee, K.W.; Lee.H.J. Kang,S.K. (2000) Explaining just how vitamin C works against cancer.J. Nutr, 359:1-2.

Lee, I.M. (1999) Antioxidant vitamins in the prevention of cancer. Proc. Assoc. Am. Physicians, 111:10-15.

Leo. M.A. Lieber, C.S. (1999) Alcohol, vitamin A, B-carotene adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am.J. Clin. Nut. 69:1071-1085.

Lupulescu, A. (1994) The role of vitaimins A, beta-carontene, E and C in cancer cell biogogy. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 64:3-14.

Lyons, N. M.; Woods, J.A. Obrien, N.M. (2001) Alfa- tocopherol but not gama-tocopherol inhibits 7-beta-hydroxy cholesterol induced apoptosis in human U937 cell. Free Rad. Res., 5:329-339.

Martinsson, P. (2001) Pharmacological studies of CHS 282 and etoposide induced tumour cell death. Uppsala university, Sweden, pp. 53.

Metcalf, J.A.; Gallin, M.D.; Nauseef, M.D. Root, R.K. (1986) Laboratory manual of neutrophil function. Raven Press Newyork, U.S.A.

Meydani, S.N.; Meydani, M. Blumberg, J.B. (1997) Vitamin E supplementation and in vivo immune response in healthy elderly subjects. JAMA, 277:1380-1386.

Michaud, D.S.; Spiegelman, H.; Clinton, S.K.; Rimm, E.B.; Willett,W.C. Giovannucci, E. (2000) Prospective study of dietary supplements, macronutrients, micronutrients, and risk of bladder cancer in US men. Am.J. Epidemiol., 152:1145-1153.

Moller, P. Loft, S. (2002) Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies. Am.J. Clin. Nutr. 76:303-310.

Moriwaki, Y.; Yamomoto, T. Higahino, K. (1999) Enzymes involved in purine metabolism: view of histochemical localization and functional implications. Histol. Histopathol., 14:1321-1340.

Mure, K. Rossman, T. G. (2001) Reduction of spontaneous mutagenesis in mismatch repair-deficient and proficient cells by

dietary antioxidants. Mut. Res. Fund. And Mol. Mechanisms .Mutagenesis, 480:85-95

O'leary, K.A.; Woods,J.A. O'brien, N.M. (2001) λ-Tocopherol is less effective than a- tocopherol in preventing oxidant- induced sister chromatid exchanges in Chinese in hamster V79 cells. Free rad. .Res., 35:917-927

Odeleye, O. E.; Eskelson, C.D.; Mufti, S.1. Watson, R.R. (1992) Vitamin E protection against nitrosamine induced esophageal tumor .incidence.Lett., 114:195-202

;.Palozza,p.; Serini, S.; Torsello, A.; Dinicuolo,F.;Piccioni,E

Ubaldi, V.; Pioli, C.; Wolf,F.1. Calviello,G. (2003) Beta-carotene regulates NF-Kappa-B-DNA-binding activity by aredox mechanism in human leukemia and colon adenocarcinoma cells.J.Nutr., 133:381-.388

Piesova,E. Sivikova, K. (2003) The induction of micronuclei in bovine lymphocytes by exposure to benzene and S-9 mix. Ann. Agric. .Environ Med., 10:261-263

Rogers, M. H.; Lwin, R,;Fairbank, L; Gerritsen, B. Gaspar, H.B. (2001) Cognitive and behavioral abnormalities in adenosine deaminase deficient severs combined immunodeficiency. .Pediat.139:44-50

Rohan, T.E.; Howe, G.R.; Friedenreich, C.M.; Jain,M. Miller, A.B. (1993) Dietary fiber, vitamins A,C and E and risk of breast cancer: a .cohort study, Cancer Causes and Control, 4:29-37

Salganik, R. 1. (2001) The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer .patients and the human population.J. Am. Coll. Nutr. 20:464-472

Sawant, S.S. Kandarkar, S. V. (2000) Role of vitamins C and E as chemopreventive agents in the hamster cheek pouch treated with .the oral carcinogen-DMBA. Oral dis., 6:241-247

Scarfiotti, C.; Fbirs, F.; Cestaro, B. Giuliani, A. (1997) Free radicals, atherosclerosis, aging, and related dysmetabolic pathologies: pathological and clinical aspects. European J. Cancer prev., 6:531-.536

Schmid, W. (1976) The cell micronucleus test for cytogenes analysis In: Hollaender, A. (Ed.) Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection. Volume Four. Plenum Press, New York and .London.pp. 31-53

Schorah, C.J. (1999) Micronutrients, vitamins, and cancer risk. .Vitam. Horm. 57:1-23

Schwartz, L. H.; Urban, T. Hereberg, S. (1994) Antioxidant minerals .and vitamins role in cancer prevention, Presse Mid., 23:1826-1830

Shubber, E. K. Al Allak, B. M. A. (1986) Spontaneous chromosomal aberrations and SCES in human lyphocytes effects of culture .condition. Nucleus. 29:92-96

Smirnoff, N. (2001) L-ascorbic acid biosynthesis. Vitamins and .Hormones, 61:241-265

Sood, R. (1986) Haematology for students and practitioners. Jaypee .Brothers, New Delhi, India

Sram, R.J.; Dobias, L.; Pastorkovo, p.; Rossner, p. Janca, L. (1983) Effect of ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations in the peripheral lymphocytes of coal-tar workers. .Mutation Res., 120:181-186

Sue, B. (1995) Vitamin E needed by every cell. Inc. The bread .beakers Nutri.News.,pp.1-2

Summerton, C.; Shetty, p.; Somdle, L.N. Watt, S. (2002) Nutritional, metabolic and environmental diseases. In: Davidson's principles and Practive of Medicine, 50th Edition, editedby: C- Hasiett, E R chilrers, .N.A. Boon and N.R. College, Churchill Livingstone,U.K.pp.297-336

Terry, p.; Jain, M.; Miller,A.B.;Howe, G.R. Rohan, T.E. (2002) Dietary .carotenoids and risk of breast cancer. Am. J. Clin.Nut., 76:883-888

Toma, S.; Losardo,p. L; Vincent, M. Paiumbo, R. (1995) Effectiveness of beta-carotene in cancer chemoprevention. Eur.J. .Cancer Prev., 4:213-224

Topham, J.C. (1980) The detection of carcinogene induced sperm .head abnormalities mice. Mutation Res., 69:149-155

Van Poppel, G. van Denberg.H. (1997) Vitamins and cancer. Cancer .Lett., 114:195-202

Vecchia, L.C. Franceschi, S. (2000) Nutrition and anticancer. Can. J. Gastroenterol., 14:510-540

Virtamo, J. (1999) Vitamins and lung cancer. Proc. Nutr. Soc., .58:329-33

Wang, X.D. Russell, R.M. (1999) Procarcinogenic and .anticarcinogenic effects of beta-carotene.Nutr. Rev., 557:263-272

Watson, W.H.; Cai, J. Jones, D.P. (2000) Diet and apoptosis. Annual .Reviews. Org., 20:485-505

Wyrobek, A. J. Bruce, W.R. (1975) Chemical inducation of .spermalities in mice. Proc. Natl, Acad. Sci. 72:4425-4429

Xu, p.A. Kellems, R.E. (2000) Function of murine adenosine deaminase in the gastrointestinal tract. Biochemical and biophysical .research communications. 269:749-757

Yaseen, N.Y. (1990) Cytogenectic study of human colorectal cancer .Thesis, cell. Ph. D. University Sheffield.U.K

Young, H.W.; Molina, J.D.; Dimina, D.;Zhong,H.;Jacobson,M.;Chan,L.N.; Chan, T.S.; Lee,J.J. Blackburn, M.R.(2004) A3 Adenosine receptor signaling contributes to airway in flammation and mucus production in adenosine deaminase deficient .mice.J.Immunol., 173:1380-1389

Young, H.W. J.;Bomerjee, S.K.;Colestrdo, G.N. Blackbrun, M. R. (2001) Adenosine dependent airway inflammation and Hyperresponsiveness in partially adenosine deaminase deficient. .Mice, J.Immunol.167:4676-4685







عمان - شارع الملك حسين - مجمع الفحيص التجاري
تلفاكس: [illegible] خلوي: [illegible]
ص.ب: [illegible] عمان [illegible] الأردن
بغداد - شارع السعدون - عمارة فاطمة
تلفاكس: [illegible] خلوي: [illegible]
E-mail: dardjlah@yahoo.com
www.dardjlah.com

